REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE FARHAT ABBAS-SETIF

MEMOIRE

Présenté à la Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de Biochimie
Pour l'obtention du Diplôme de

MAGISTER

EN BIOCHIMIE
Option : Biochimie appliquée
Par : **SIDANI Said**

THEME

L'exploration de l'érythropoïèse *via* le taux sérique des récepteurs solubles de la transferrine (Rs-Tf) chez les sujets anémiques

Sous la direction de: Pr. DJABI Farida

Soutenue publiquement le 06 /10 / 2011 devant la

Commission d'examen :

Président :	BENBOUBETRA Mustapha	**Pr.**	Université de sétif
Rapporteur :	DJABI Farida	**Pr.**	Université de sétif
Examinateurs :	HOUCHER Bakhouche	**Pr.**	Université de sétif
	BOUZIDI Abdelouahab	**MC.**	Université de sétif

Année universitaire : 2010/2011

Remerciements

Je tiens à remercier toute personne qui a contribué de prés ou de loin à la réalisation de ce mémoire :

Professeur Djabi F du CHU de Sétif d'avoir proposé ce sujet et pour sa disponibilité à diriger ce travail à travers ses critiques et ses propositions d'amélioration.

Professeur Benboubetra M de l'université de Sétif par sa générosité, son aide, et de m'avoir fait honneur de présider le jury de soutenance

Je remercie vivement Professeur Houcher B et Docteur Bouzidi A de l'université de Sétif d'avoir accepté de juger mon travail de magister.

Je remercie également Mme Hassaine F la cheffe de service du laboratoire mère et enfant du CHU de Sétif par sa prise en charge au laboratoire au cours de notre cycle d'étude.

Je remercie tous mes enseignants et les membres du comité pédagogique du magistèr: Pr Benboubatra M, Dr Belaatar N, Dr Bouzidi A, Dr Belhattab R, Dr Agoun Dj, Dr Adjiri A.

Ainsi que Dr Benabid M et Dr Guessoum du CHU de Sétif qui ont été toujours à notre disposition.

Sans oublier tout le personnel du laboratoire de biochimie mère et enfant du CHU de Sétif sans exception

Dédicace

Je dédie ce mémoire à mes très chers parents.
Ainsi qu'à tous mes amis.
A tous les scientifiques du monde entier.

Résumé:

Par sa localisation privilégiée sur les cellules immatures érythroïdes de la moelle osseuse, le récepteur de la transferrine (R-TF) joue un rôle vital dans leur acquisition du fer qui sert à la synthèse de l'hémoglobine. La concentration intracellulaire en fer régule de manière inverse la synthèse du R-TF. Le récepteur soluble (Rs-TF) est une forme tronquée, monomérique du récepteur membranaire provenant majoritairement des cellules rouges immatures (érythroblastes). Sa concentration est le reflet direct du statut martial et de l'érythropoïèse.

Une anémie par déficit martial concomitante à un syndrome inflammatoire est un cas fréquent chez les malades souffrants des maladies chroniques. Dans ce genre d'anémies, les paramètres courants d'exploration martiale sont inefficaces pour mettre en évidence cette carence. En effet, ils subissent des variations contradictoires ce qui rend le bilan martial ininterprétable, c'est le cas où la ferritine se comporte simultanément comme un marqueur de carence et une protéine de la phase aiguë de l'inflammation (la ferritinémie est normale ou élevée). Le dosage du Rs-TF trouve ici l'une de ses principales applications cliniques, car sa concentration n'est pas influencée par l'inflammation. Pour mettre en évidence l'intérêt de ce nouveau marqueur, cette étude a été réalisée sur 60 sujets sains (groupe1ou témoin) et 132 malades adultes hospitalisés au niveau du CHU de Sétif : 50 patients souffrant d'anémie ferriprive (groupe 2), 82 patients souffrant de maladies chroniques associée à une anémie (groupe 3). Tous ont bénéficié d'un bilan martial plus le dosage du Rs-Tf. Les résultats obtenus étaient concluants : la bonne corrélation du Rs-Tf avec les autres paramètres du bilan montre sa sensibilité au statut martial. Le taux du Rs-Tf est revenu élevé chez la totalité des malades du groupe 2 attestant une augmentation des besoins de l'organisme en fer. La différence interindividuelle du taux de Rs-Tf dans le groupe 3 nous a permis de sélectionner 42 patients ayant une carence martiale associée à la maladie chronique des 82 patients de départ. Ces résultats montrent la haute spécificité du Rs-Tf dans la mise en évidence d'une carence en fer sous-jacente à une maladie inflammatoire, ce qui le rend très avantageux par rapport aux anciens examens du bilan martial. Enfin, cette étude nous a permis de préconiser le dosage du Rs-Tf comme examen biochimique très prometteur pour l'exploration de l'érythropoïèse et le diagnostic différentiel des anémies chez l'adulte, avec un intervalle de valeurs normales de: 2.65 à 4.39 mg/L chez l'homme et la femme ménopausée et de: 2.03 à 3.69 mg/L chez la femme non ménopausée, dans l'espoir d'établir un intervalle international de valeurs de références.

Mots clés : fer sérique ; transferrine ; Rs-Tf, ferritine ; érythropoïèse ; anémie ferriprive ; anémie inflammatoire ; bilan martial.

The exploration of erythropoiesis *via* the serum transferrin receptor (sTfR) level in the anemic patients

Abstract

The aim of the present study is to evaluate in a hospitalized population of anemic adults the diagnostic efficiency of the serum transferrin receptor (sTfR). The objective is to distinguish iron deficiency anemia (IDA) from anemia of chronic disease (ACD) and the combined forms (COMBI anemia). Serum iron and serum ferritin are the most commonly used tests for the detection of iron deficiency, however these values may not be reliable. Serum transferrin receptor (sTfR) has been introduced as a new tool, and its values are not affected by an increase in cytokine production in ACD patient. 132 patients, hospitalized at the CHU-Setif, were enrolled in this study; 50 were affected with IDA and 82 were affected with ACD. The control group included 60 healthy adults. Iron status was evaluated in these patients including serum transferrin receptor. Results showed that values of iron, MCV, and hemoglobin in IDA, ACD and COMBI groups were not significantly different. Serum ferritin values distinguished IDA from ACD reliably but the diagnostic usefulness of ferritin measurements in ACD and COMBI patients is limited for their wide range of variation. Serum TfR levels were > 4.39 mg/L in men and >3.69 mg/L in women in all IDA patient tested. This helped us to select 51% patients with COMBI anemia among the 82 patients with ACD. Serum TfR was the best test to differentiate IDA and COMBI anemia from ACD patients. Calculation of the ratio sTfR/log ferritin (sTfR-F Index), is a way of combining sTfR and ferritin results. This ratio provided an important parameter for the identification of patients with depleted iron pools. We conclude that sTfR measurement is a sensitive and a valuable-noninvasive tool for the diagnosis of iron depletion. It proves an attractive additional method to the conventional laboratory tests in the prediction of depleted iron pools in anemic adult population.

Key words: serum iron; transferrin, serum transferrin receptor; ferritin; iron deficiency anemia; anemia of chronic disease; serum iron level.

تقيم كثافة تنشئة الكريات الدموية الحمراء عن طريق قياس كمية المستقبل المصلي للترنسفيرين في الدم عند مرضى فقر الدم

الملخص:

يهدف هذا العمل إلى تقيم مدى فعالية قياس كمية المستقبل المصلي للترنسفيرين في الدم, كاختبار جديد في التشخيص التبايني للتمييز بين أنواع فقر الدم, وكمية المعلومة التي يمكن أن يضيفها للتشخيص حول كثافة تنشئة الكريات الدموية الحمراء مقارنة بالاختبارات المصلية المعتاد الاعتماد عليها في مثل هذه الحالات من التشخيص, حيث اثبت عدم جدوى الاعتماد عليها في الحالات التي يكون تركيزها في الدم لا يعكس الحالة الفيزيولوجية الحقيقية لمخزون الجسم من الحديد, خاصة بالنسبة للفيريتين (البروتين المخزن للحديد). في الحالات التي يتزاوج فيها نقص الحديد مع مرض التهابي مزمن أين ترتفع كميتها في الدم تحت تأثير نواتج الالتهاب. وبالتالي فهي تموه حالة نفاذ الحديد في الجسم وتجعل عملية التشخيص صعبة, هذا ما يتطلب اللجوء إلي معايير جديدة أكثر فعالية , مثل مستقبل الترنسفيرين الذي تتناسب كميته في الدم طردا مع حاجة الجسم للحديد خاصة النخاع العظمي, كما أنها لا تتأثر بنواتج الالتهاب. من اجل إثبات ذلك أجرينا هذه الدراسة على عينة تتكون من 132مريض يعالجون على مستوى المستشفي الجامعي – سطيف : 50 مريض يعانون من فقر الدم ناتج عن نقص كمية الحديد في الجسم, و 82 مريض يعانون من فقر الدم ناتج عن أمراض التهابية مزمنة يحتمل أن يكون مرفق بنقص كمية الحديد في الجسم, و60 فرد في صحة جيدة يمثلون المجموعة الشاهدة. استفاد كل فرد من تحاليل للدم اشتملت جميع المعايير التقليدية لتشخيص حاجة الجسم للحديد إضافة إلى قياس كمية المستقبل المصلي للترنسفيرين (موضوع دراستنا), هذا الأخير الذي مكننا من إثبات الحاجة الشديدة للحديد عند المرضى الذين يعانون نقص كمية الحديد في الجسم حيث كانت قيمته جد مرتفعة عند هذه الفئة, كما مكننا من انتقاء 42 مريض يعانون نقص كمية الحديد في الجسم من بين 82 حيث عجزت عن ذلك الفيريتين والمعاير الأخرى المعتادة. وبالتالي هذه الدراسة سمحت لنا باقتراح هذا المعيار الجديد لإضافته إلي قائمة التحاليل المخبرية التي يعتمد عليها الطبيب للتشخيص التبايني لحالات مرض فقر الدم, وتقييم كثافة تنشئة الكريات الدموية الحمراء في النخاع العظمي وحاجة هذا الأخير للحديد. كما نقترح هذا المعيار كبديل يعوض المعيار التقليدي الوحيد الذي يتطلب الفحص المجهري لعينة من نخاع العظم بإجراء ثقب في العظم لمعرفة مخزونه من الحديد (عملية جد مؤلمة ومكلفة). كما تمكننا من تعين مجال للقيم العادية عند الفرد البالغ من (2,65 إلي 4,39) ملغ/ل عند الرجل و من (2,03 إلي 3,69) ملغ/ل عند المرأة, لكن يبقي تعين مجال القيم الفيزيولوجية العادية ليعتمد عليه عالميا هو الهدف المرجو في المستقبل.

الكلمات الدالة : الحديد, كمية الحديد في الجسم, الترنسفيرين, مستقبل الترنسفيرين, النخاع العظمي, الكريات الدموية الحمراء, مرض التهابي مزمن, نقص الحديد, فقر الدم .

Liste des abréviations

ALA : δ-aminolevulinate

AF : anémie ferriprive

AMC : anémie des maladies chroniques

β2m : β2-microglobuline

BFU-E : Burst Forming Unit-Erythroid

CFU-GEMM : Colony Forming Unit-Granulocyte Erythrocyte Megacaryocyte Macrophage

CFU-E : Colony Forming Unit-Erythroid

CMH : Complexe Majeur d4Hitosompatibilité

CO : monoxyde de carbone

CP : céruloplasmine

CSH : Cellule Souche Hématopoïétique

Dcytb : Duodenal cytochrome b reductase

DMT1 : Divalent Metal Transporter 1

EP : érythrophagocytose

EPO: érythropoïétine

ETU: erythron transferrin uptake

FLVCR : Feline Leukemia Virus subgroup C Receptor

GM-CSF : Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor

GR : Globule Rouge

HCP1 : Heme Carrier Protein 1

HFE : Human hemochromatosis ou HFE protein ou HFE for High Fe (hemochromatosis); sa mutation provoque l'hémochromatose

HIF : Hypoxia Inducible Factor

HO : Hème-Oxygénase

Hp : Haptoglobine

Hpx **:** hypotransferrinémique

HRE : Hypoxia Responsive Element

IL : interleukine

IRE : Iron Regulated Element

IRP : Iron Regulatory Protein

KO : knock-out

LCR : Locus Control Region

LPS : Lipopolysaccharide

mk **:** microcytic anemia, anémie microcytaire

MTP1 : Metal Transporter Protein 1 = Ferroportine

MCV : Mean Cellular Volume

NGAL: Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin

NO : monoxyde d'azote

Nramp : Natural resistance associated macrophage protein.

NTBI : Non Transferrin Bound Iron, fer non lié à la transferrine

R-Tf1 : récepteur transferrine 1

R-Tf2 : récepteur transferrine 2

Rs-Tf : récepteur transferrine soluble ou sérique

SCF : Stem Cell Factor

sla **:** sex linked anemia

STEAP : Six-Transmembrane Epithelial Antigen of the Prostate

Tf : transferrine

TGF-β : Tumour Growth Factor β

TIBC : Total iron Binding Capacity

TNF : Tumour Necrosis Factor

VHL : Von Hippel-Lindau

Intitulé des figures

Intitulé des tableaux

Sommaire

Introduction

Actuellement, l'approche diagnostique des anémies par déficit érythropoïétique en fer passe par la mesure de la concentration sérique en fer, de la transferrine, son coefficient de saturation ou sa capacité totale de fixation (TIBC) et de la ferritinémie. Si la carence persiste, les effets de l'hyposidérémie apparaissent sur les globules rouges circulants : augmentation de la protoporphyrine érythrocytaire, la diminution de la quantité d'hémoglobine, hypochromie et microcytose. Deux grandes catégories de maladies s'accompagnent d'un déficit érythropoïétique en fer : les anémies par carence martiale dite *ferriprive* (AF) et les anémies des maladies chroniques (AMC).

Depuis quelques dernières années un nouveau marqueur biologique d'une grande importance dans le bilan d'une anémie a été mis en jeux. Il vient compléter significativement les informations apportées par les paramètres classiques du bilan martial. C'est le récepteur soluble de la transferrine Rs-Tf, une forme circulante produite par un clivage protéolytique de récepteur de la transferrine membranaire (R-Tf) la protéine clé pour l'acquisition cellulaire du fer transporté par la transferrine et qui est présent à la surface de toutes les cellules de l'organisme. Le nombre de Rs-Tf sérique est directement proportionnel aux récepteurs exprimés par une cellule et à ses besoins en fer. Ce nombre diminue au fur et à mesure de la maturation cellulaire, à l'exception de deux tissus qui ont d'importants besoins en fer en permanence : la moelle érythropoïétique et le placenta. En dehors de la grossesse, la concentration de Rs-Tf circulant est principalement déterminée par celle des précurseurs érythroïdes dans la moelle osseuse puisque ces cellules contiennent 70 à 80% des R-Tf de l'organisme.

La carence martiale est la première cause d'anémie chez l'adulte. L'anémie est définie par une diminution de l'hémoglobine inférieure à un seuil limite qui varie en fonction de l'âge et du sexe. Ainsi, d'après l'OMS, ce seuil est fixé à 120 g/L pour les femmes non enceintes et 130 g/L pour les hommes. Une anémie par carence martiale est due à une déplétion des réserves en fer de l'organisme (il y a environ 4 g de fer dans l'organisme dont 70 % contenus dans l'hémoglobine) qui entraîne un défaut d'hémoglobinisation des globules rouges se traduisant par une microcytose. A côte de la ferritine, et vu sa sensibilité élevée aux besoins cellulaires en fer, le Rs-Tf présent ici un grand intérêt dans le diagnostic très précoce d'une déficience martiale juste après l'épuisement des réserves en fer, avant l'aggravation de l'état et l'anémie s'installe

Au cours des maladies chroniques, telles que les états inflammatoires, infections ou tumeurs, l'anémie est fréquente. Les paramètres habituels d'exploration martiale sont inopérants pour mettre en évidence une carence en fer associée (soustraient). En effet, chacun d'entre eux subit des modifications de sens opposé qui empêchent l'interprétation clinique. C'est ainsi que la ferritine se comporte à la fois comme un indicateur de carence et comme une protéine de la phase aiguë : sa concentration est « anormalement » normale ou élevée, même si une carence en fer est associée à l'inflammation. Le Rs-Tf trouve ici l'une de ses principales applications cliniques dans le diagnostic différentiel des anémies, car sa concentration n'est nullement influencée par l'inflammation ou l'infection inversement aux paramètres classiques du bilan martial.

La performance du diagnostic peut en suite s'améliorer par le calcul du rapport Rs-Tf/Log de la ferritine. Ce rapport est également d'un grand intérêt, il rapporte au diagnostic une information sur les besoins et les réserves en fer simultanément.

Les objectifs de notre étude, réalisée chez ces deux catégories des sujets anémiques sont multiples :

- Confirmer l'utilité et la spécificité de ce paramètre et de l'intégrer dans la liste des paramètres de routine du bilan martial pour le diagnostic différentiel des anémies qu'on réalise quotidiennement au sein de nos laboratoires en Algérie

- Tenter d'établir un intervalle de référence pour les valeurs normales de ce marqueur chez l'adulte pour les deux sexes

- Remplacer la coloration au bleu de Prusse sur un aspirat de moelle osseuse (le Perls médullaire) qui est présentement la seule technique pour confirmer une déficience véritable en fer lors d'une maladie chronique (Un examen qui est très invasif, traumatisant et coûteux) par le dosage du Rs-Tf.

Revue bibliographique

Sur

Le métabolisme du fer

I. Métabolisme du fer

Du fait de sa capacité à accepter ou donner des électrons en fonction de son degré d'oxydation, le fer est un métal qui, bien que présent en traces dans l'organisme, est essentiel à la vie. Il est un constituant de l'hémoglobine, de la myoglobine et de plusieurs enzymes (peroxydases et cytochromes) qui possèdent une liaison avec une molécule appelée hème. Le fer, qui se situe au cœur de l'hème, a la capacité de se lier à une molécule d'oxygène et d'agir ainsi, en tant que constituant de l'hémoglobine, comme transporteur sanguin de l'oxygène. Le fer est aussi le cofacteur de nombreux enzymes. Ce métal étant essentiel à la vie, l'organisme dispose de nombreux mécanismes pour le stocker et le conserver.

Le fer, en provenance de l'alimentation, est entreposé dans l'organisme au niveau de deux protéines tissulaires, la ferritine et l'hémosidérine. Il est transporté dans le sérum lié à la transferrine. Très peu de fer est normalement perdu par l'organisme et l'apport alimentaire compense les pertes. Si la réserve de fer diminue, l'organisme va synthétiser davantage de transferrine afin d'augmenter l'absorption intestinale du fer. Si la déficience en fer devient sévère, la synthèse de l'hémoglobine en sera affectée et une anémie dite ferriprive va s'installer.

I.1. Le Cycle du fer (L'absorption, le transport, l'utilisation, le recyclage et le stockage du fer)

L'organisme contient de 3 à 5 g. de fer au total mais son métabolisme l'économise au maximum, fonctionnant quasiment en circuit fermé [1]. L'apport doit strictement compenser les pertes : un déséquilibre entraînera à plus ou moins long terme une carence ou une surcharge.

I.1.1. Absorption intestinale du fer

Le fer alimentaire est absorbé au niveau de la partie proximale de l'intestin grêle, le duodénum. Le duodénum est constitué de villosités et de cryptes. Les cellules de la villosité, les entérocytes, sont responsables de l'absorption intestinale du fer. Elles sont issues de la différenciation de cellules souches situées au niveau de la crypte et acquièrent leurs propriétés absorptives au cours de leur migration le long de la villosité. Les entérocytes sénescents sont exfoliés dans la lumière intestinale (Figure 1). On estime que l'épithélium intestinal se renouvelle ainsi en 3 à 5 jours [2].

Le contenu en fer des aliments est très variable (Tableau 1). Dans les pays développés, le régime alimentaire contient en moyenne 10 à 20 mg de fer par jour. Sur ces 10 à 20 mg seuls 10% seront ensuite absorbés au niveau du duodénum [2]. Cette faible proportion est due d'une part à une régulation de l'absorption en fonction des besoins (voir plus loin) et d'autre part à la biodisponibilité du fer qui est très variable suivant les aliments.

Le fer présent dans l'alimentation est soit lié à l'hème (forme héminique), facilement assimilable (15 à 35% sont absorbés), soit sous forme non héminique, essentiellement dans les végétaux, plus difficile à absorber (2 à 20 % absorbés). Le régime normal chez l'homme est constitué majoritairement de fer non héminique, le fer héminique provenant surtout de la myoglobine et de l'hémoglobine trouvée dans les viandes. Dans les deux cas, le fer est oxydé (Fe^{3+}) [1].

Aliment	Contenu en mg de Fer/100g	Aliment	Contenu en mg de Fer/100g
Foie de porc	19	Abricots secs	5,5
Levure de bière sèche	17,3	Huitres	5,5
Cacao	12,5	Amand, noisettes	4,5
Caviar	11,8	Sardines	3,5
Foie de mouton	10,9	Noix	3,1
Lentilles	6,8	Epinards	3,1
Soja	8,4	Cot de bœuf	3,1
Jaune d'œuf	7,2	Jambon	2,5
Persil	6,2	Vin	0,3 à 0,5
Haricot blancs	6,1	Lait de vache	0,04
Moules	5,8		

Tableau 1. Exemples de teneur d'aliments riches en fer héminique et non héminique [2]

Le fer d'origine héminique : L'absorption du fer héminique se fait probablement via un récepteur spécifique situé à la membrane apicale de l'entérocyte, HCP1 (Heme Carrier Protein 1), qui a été identifié très récemment par une équipe anglaise [3]. L'hème fixé à son récepteur serait transloqué à l'intérieur de la cellule puis dégradé par l'enzyme hème-oxygénase (HO). Le fer ainsi libéré rejoindrait le pool de fer internalisé via DMT1 (Divalent Metal Transporter 1) (Figure 1).

Le fer non héminique : L'absorption du fer non héminique peut-être facilitée par la présence dans le bol alimentaire d'acide ascorbique ou inhibée par les tannins (dans le thé, le café, le vin) ou l'acide phytique (dans les légumes, le riz). Le fer non héminique est dans un premier temps réduit par la réductase Dcytb (Duodenal cytochrome b) puis transporté à travers la membrane apicale de l'entérocyte par le transporteur transmembranaire DMT1 (Figure 1).

L'implication de Dcytb dans l'absorption intestinale de fer a récemment été remise en cause par la création de souris knock-out (KO) Dcytb qui ne présentent pas de déficience en fer [4]. Les réserves en fer non altérées chez ces souris pourraient s'expliquer soit par une compensation de

l'activité réductase par la production endogène d'ascorbate (cette production est spécifique de la souris, on ne la retrouve pas chez l'homme), soit par la présence de molécules antioxydantes dans le régime alimentaire des souris, soit enfin par la présence d'une autre réductase qui reste à identifier.

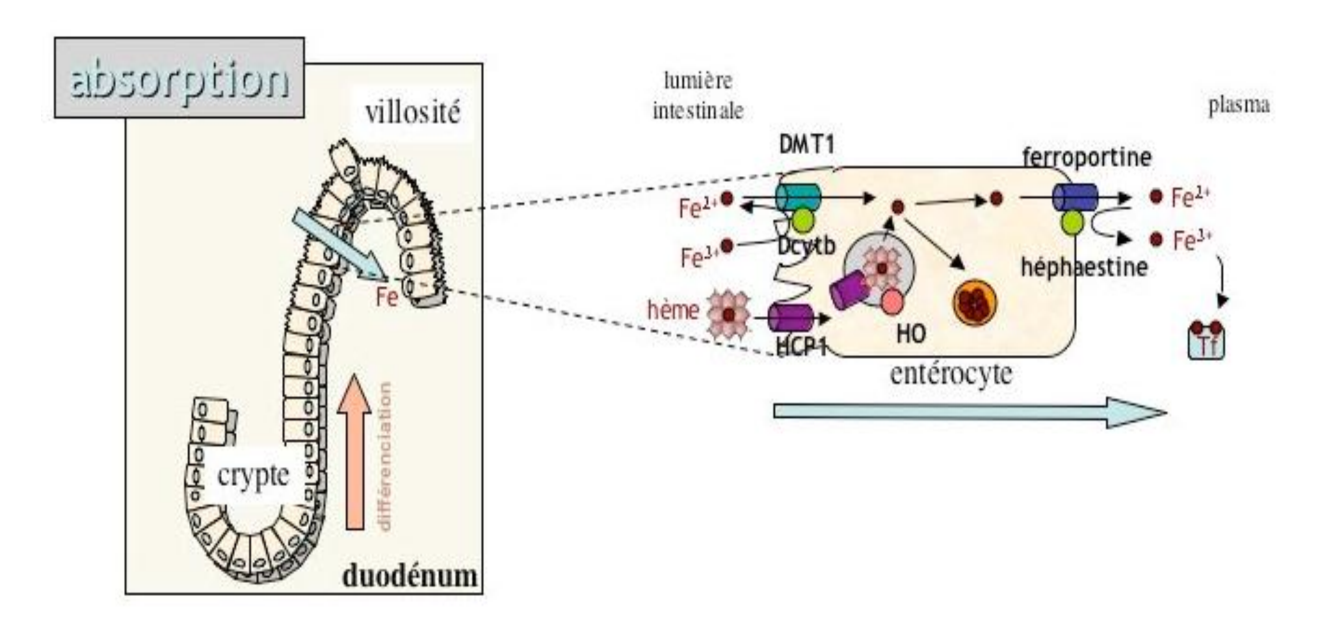


Figure 1. L'absorption intestinale du fer

Le fer est absorbé au niveau du duodénum par les entérocytes situés au sommet des villosités duodénales. Dans la lumière intestinale, le fer non héminique est d'abord réduit probablement par Dcytb, puis transporté par DMT1. Le fer héminique serait pris en charge par le transporteur HCP1, et dégradé par l'hème-oxygénase (HO). Dans l'entérocyte, le fer peut, soit être stocké dans la ferritine, soit transporté par la ferroportine vers le plasma. Il est ensuite oxydé par l'héphaestine avant d'être pris en charge par la transferrine (Tf) circulante [5].

Une fois dans la cellule, le fer peut être stocké dans la ferritine ou transporté de nouveau au pôle basolatéral vers la circulation sanguine par le transporteur transmembranaire ferroportine. Dans le sang, la transferrine (Tf) qui peut lier deux atomes de fer permet de véhiculer le fer dans tout l'organisme. Pour cela, le fer doit être préalablement oxydé par la ferroxydase héphaestine située sur la membrane basolatérale de l'entérocyte (Figure 1) [6,7].

I.1.2. Transport sanguin et captation du fer par la cellule

Le fer lié à la transferrine (holotransferrine, holoTf ou Tf-Fe2) est capté par les cellules via le récepteur à la transferrine 1 (RTf1). Les cellules utilisent ce fer pour synthétiser de nombreuses protéines contenant un ou plusieurs atomes de fer. Ces protéines sont impliquées dans divers mécanismes cellulaires, mais les propriétés liées au cycle d'oxydoréduction du fer en font un métal de choix pour permettre le transfert d'électrons dans la chaîne respiratoire, la catalyse, le transport et le stockage de l'oxygène ou bien le transport du NO [8].

I.1.2.1. Captation du fer par le récepteur de la transferrine

Le complexe Tf/RTf1 [9] pénètre dans la cellule par endocytose, le fer est libéré du complexe dans l'endosome tardif à la faveur d'un pH acide, puis est transféré de l'endosome vers le cytosol probablement grâce au transporteur DMT1 [10] (Figure 2). Très récemment, par l'étude de souris anémiques *nm1504*, a été identifiée une ferriréductase endosomale qui serait responsable de la réduction du fer lié à la Tf avant le transport transmembranaire de ce fer par DMT1 dans les précurseurs érythroïdes : STEAP3 (pour Six-Transmembrane Epithelial Antigen of the Prostate) [11]. La Tf libérée de son fer, l'apo-transferrine (apoTf), et son récepteur sont ensuite tous deux recyclés à la surface cellulaire (Figure 2).

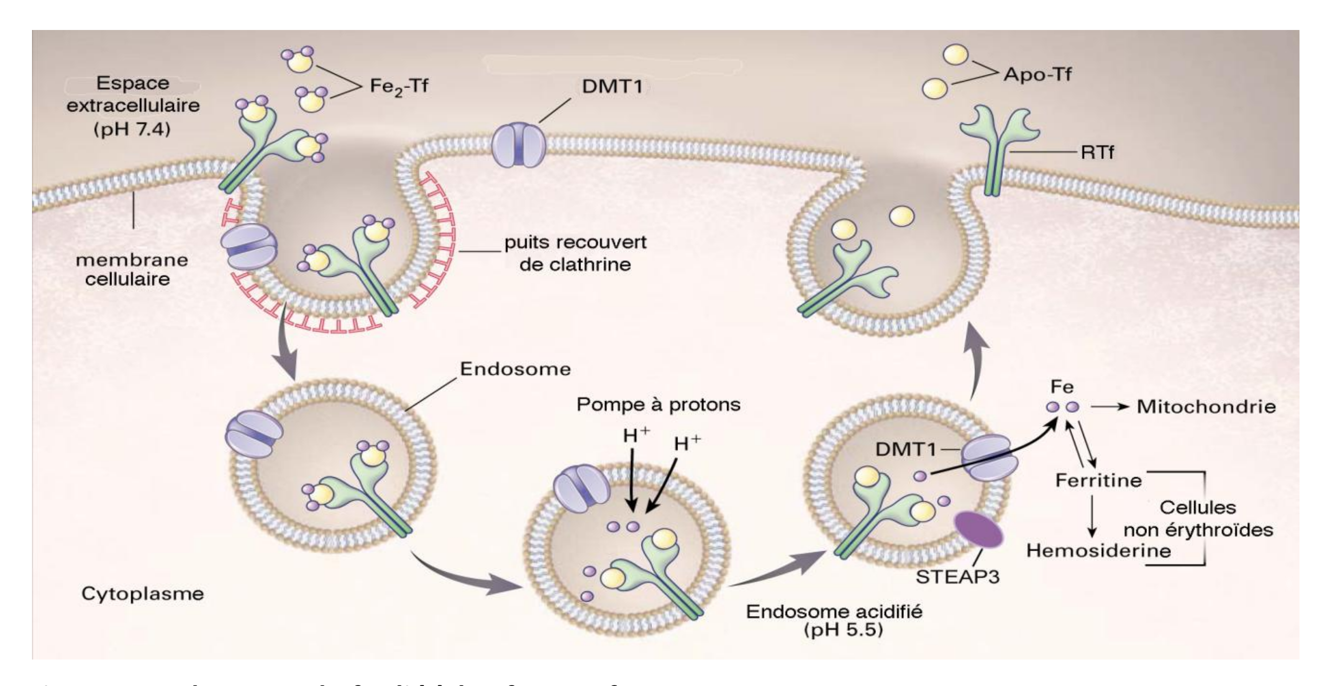


Figure 2. Endocytose du fer lié à la Tf par RTf

L'holotransferrine (Fe2-Tf) est reconnue par le récepteur de la transferrine (RTf) (en vert) à la surface de la cellule. Le complexe RTf-Fe2-Tf subit une endocytose dans une vésicule recouverte de clathrine. Dans l'endosome, à la faveur d'un pH acide, le fer se dissocie de la transferrine. Le fer serait réduit ensuite par une ferriréductase, probablement STEAP3 dans les précurseurs érythroïdes, puis transportée vers le cytoplasme par DMT1. Le récepteur et l'apo-transferrine (Apo-Tf) sont finalement recyclés par fusion de la vésicule à la membrane plasmique de la surface cellulaire [9].

Le recyclage est un phénomène complexe faisant intervenir un grand nombre de molécules. L'une d'entre elles vient d'être clairement identifiée grâce au clonage positionnel du gène responsable du phénotype de souris mutantes dites déficientes en hémoglobine, les souris *hbd*. Le gène en question code pour une protéine impliquée dans l'exocytose des vésicules, Sec15l1 [12]. Sa mutation chez la souris entraîne un phénotype particulier de déficit relatif en fer dans le proérythroblaste sans déficit en fer systémique [13]. Le rôle exact joué par la protéine mutante Sec15l1 dans l'acquisition de ce phénotype reste à déterminer [12,14].

L'interaction de la Tf avec son récepteur est utilisée dans un grand nombre de cellules (en particulier les cellules tumorales qui prolifèrent beaucoup). Elle ouvre des perspectives thérapeutiques intéressantes et est maintenant utilisée pour la délivrance de drogues/médicaments à l'intérieur des cellules [15]. Par exemple, le gallium 67Ga3+ émet un rayonnement gamma qui lui confère des propriétés anti-tumorales et ce métal est capable de se lier à la Tf qui le transporte jusqu'aux cellules cibles.

D'autres formes d'acquisition du fer par les cellules ont été décrites :
- acquisition du fer non lié à la Tf (Non Transferrin Bound Iron, NTBI) [16,17]
- acquisition de l'holoTf par une voie indépendante de RTf1 [18]
- acquisition de la ferritine médiée par un récepteur [19]
- enfin, la découverte de la capacité de la molécule NGAL à transporter du fer pourrait également être une nouvelle forme d'acquisition du fer, essentiellement en situation d'inflammation [20].

I.1.3. Érythropoïèse et synthèse de l'hémoglobine (utilisation du fer)

L'organe consommant la plus grande quantité de fer (80% du fer transporté par la Tf) est la moelle osseuse où se déroule l'érythropoïèse. Elle a ainsi besoin de 20 mg de fer par jour pour pouvoir produire les 200 milliards de nouveaux globules rouges nécessaires au transport et au stockage de l'oxygène.

I.1.3.1. Érythropoïèse

À partir des quelques cellules souches hématopoïétiques (CSH) de la moelle osseuse sont formés plusieurs lignages cellulaires en fonction des signaux et facteurs de croissance reçus par les CSH (conduisant à la formation de lymphocytes, macrophages, cellules dendritiques, neutrophiles, polynucléaires, plaquettes, globules rouges). On ne discutera ici que de la différenciation érythroïde, l'érythropoïèse, qui est la plus grande consommatrice de fer pour son incorporation dans l'hémoglobine. On peut définir trois stades d'érythropoïèse au cours du développement :

- **l'érythropoïèse primitive** qui a lieu dans les îlots sanguins du sac vitellin (au 7ème jour de vie embryonnaire chez la souris). Cette érythropoïèse est indépendante d'un signal érythropoïétine (EPO) et conduit à la formation de larges érythroblastes possédant un noyau, appelés mégaloblastes ;
- **l'érythropoïèse définitive** est marquée par une forte prolifération des progéniteurs érythroïdes dans le foie foetal (10ème jour de gestation chez la souris) ;
- **l'érythropoïèse adulte** qui se caractérise par la migration des CSH du foie fœtal vers la moelle osseuse.

Les CSH s'engagent dans une voie de différenciation myéloïde pour former un progéniteur multipotent appelé CFU-GEMM (Colony Forming Unit-Granulocyte Erythrocyte Megacaryocyte Macrophage). L'engagement de ce progéniteur multipotent dans la voie érythroïde dépend d'une combinaison de facteurs de transcription et en particulier du facteur GATA-1. Les CFU-GEMM se différencient alors en progéniteurs restreints érythroïdes précoces (BFU-E pour Burst Forming Unit-Erythroid, nommés ainsi pour leur capacité à générer de larges colonies érythroïdes in vitro, voir Figure 3B) puis en progéniteurs érythroïdes tardifs (CFU-E pour Colony Forming Unit-Erythroid, nommés ainsi pour leur capacité à générer de petites colonies érythroïdes in vitro, voir Figure 3B). Les progéniteurs érythroïdes subissent ensuite une forte prolifération associée à la différenciation en érythroblastes jusqu'au stade érythroblaste polychromatophile.

La maturation des érythroblastes polychromatophiles vers le stade réticulocyte n'est pas accompagnée d'une forte prolifération. La phase finale de maturation consiste à expulser le noyau et dégrader les organelles intracellulaires. Au cours de la maturation, les précurseurs érythroïdes voient leur taille diminuer, leur contenu en hémoglobine augmenter et leur chromatine se densifier. La diminution de la taille se poursuit lors de la sénescence des globules rouges (GR appelés aussi hématies ou érythrocytes) (Figure 3A). Ainsi, un GR jeune, un réticulocyte, a une taille plus grande qu'un GR sénescent, ce qui se manifeste par une augmentation de la taille globulaire moyenne (MCV pour Mean Cellular Volume) lorsque l'érythropoïèse est accrue [21]. À l'inverse, en cas d'érythropoïèse inefficace, la taille des GR est plus petite car peu de réticulocytes sont formés, on parle d'anémie microcytaire. La forme d'un réticulocyte puis d'un érythrocyte normal est celle d'un disque biconcave, ils ont peu d'organelles internes et sont essentiellement composés d'hémoglobine.

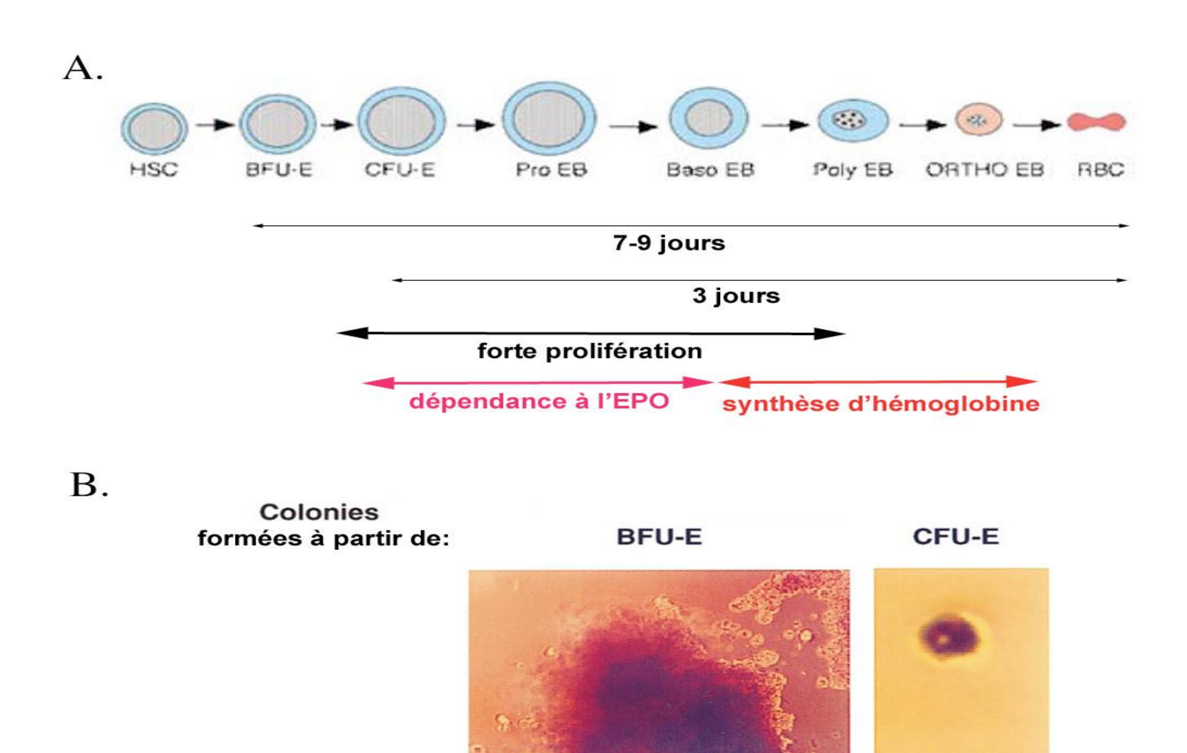


Figure 3. Érythropoïèse [21]

A. Les stades de l'érythropoïèse sont figurés par des cellules uniques avec leur morphologie présumée. HSC: Cellule souche hématopoïétique; BFU-E: Burst Forming Unit-Erythroid; CFU-E: Colony Forming Unit-Erythroid; Pro EB: Pro-érythroblaste; Baso EB: érythroblaste basophile; Poly EB: érythroblaste polychromatophile; ORTHO EB: érythroblaste orthochromatophile ; RBC: Red Blood Cell, érythrocyte ou globule rouge.

B. Photos des colonies formées à partir de progéniteurs BFU-E (Burst Forming Unit-Erythroid) ou CFU-E (Colony Forming Unit-Erythroid) en culture semi-solide.

L'érythropoïèse est finement régulée de façon à ce que le nombre de GR produits soit en adéquation avec les besoins en oxygène des tissus périphériques. En effet, une production insuffisante de GR conduit à l'anémie et une production trop importante de GR, appelée polyglobulie, entraîne une augmentation de la viscosité du sang pouvant conduire à des thromboses [22]. Cette régulation est essentiellement basée sur un équilibre entre prolifération survie et apoptose. Les deux régulateurs positifs majeurs de l'érythropoïèse sont le Stem Cell Factor (SCF) et l'érythropoïétine (EPO) [22]. Le SCF, fabriqué de façon constitutive par les cellules stromales de la moelle osseuse, se lie à son récepteur C-kit et induit la survie et la prolifération des progéniteurs érythroïdes en synergie avec notamment le GM-CSF et l'interleukine IL-3. L'EPO est le régulateur principal de l'érythropoïèse qui permet lui aussi de protéger les progéniteurs érythroïdes de la mort par apoptose.

L'EPO est produite par les cellules interstitielles du cortex rénal et sa production est finement contrôlée par la tension en oxygène qui dépend elle-même du nombre de GR produits. Il existe une véritable régulation endocrine de l'érythropoïèse via l'EPO entre les reins et la moelle osseuse [22]. Ainsi une forte corrélation est retrouvée entre le taux d'hémoglobine et le taux d'EPO. Le rein est la principale source d'EPO, c'est pourquoi un sujet ayant subi une néphrectomie est incapable d'augmenter son érythropoïèse face à une situation d'anémie. L'EPO peut également être produite dans le foie par les hépatocytes et cellules de Ito. L'étude de la régulation de l'EPO par la teneur en oxygène a conduit à l'identification des facteurs de transcription HIF (Hypoxia Inducible Factor).

L'HIF est un dimère constitué de deux sous-unités α et β. La sousunité α est régulée par l'hypoxie [23]: en normoxie, HIF-α se lie à la protéine VHL (von Hippel-Lindau) et est rapidement dégradée par le protéasome après ubiquitination ; en hypoxie, HIF-α est stabilisée et peut alors se lier à la sous-unité β et d'autres protéines comme p300 pour se fixer sur les HRE (Hypoxia Responsive Element) présents dans le promoteur de ses gènes cibles. L'érythropoïèse est aussi régulée positivement (système rénine angiotensine, IL-3, IL-6) ou négativement (Tumour Growth Factor TGF-β, caspases) par d'autres facteurs.

I.1.3.2. Synthèse de l'hémoglobine

Le fer consommé par la moelle osseuse sert essentiellement à la synthèse d'hème, groupement prosthétique de l'hémoglobine responsable de la fixation de l'oxygène (Figure5). L'hémoglobine des GR circulant représente environ 60 à 70% du fer total présent dans l'organisme. La synthèse de l'hémoglobine nécessite en effet la production coordonnée de l'hème et des globines qui la constituent (Figure 4). Les érythroblastes acquièrent le fer à partir de la Tf (voir ci-dessus), ils possèdent pour cela une grande quantité de R-Tf à leur surface.

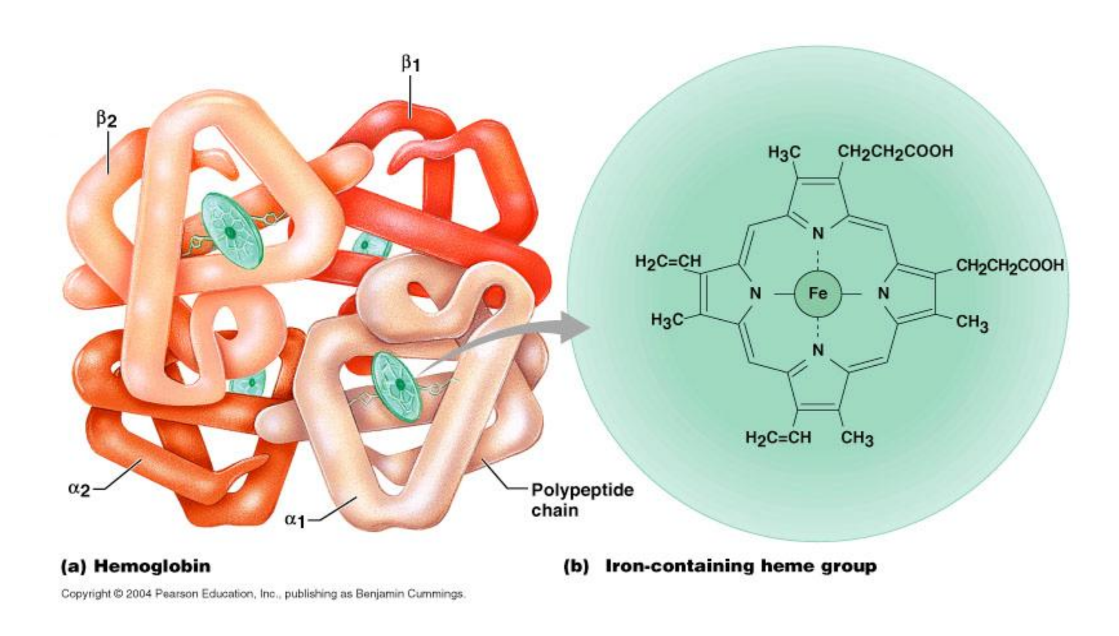
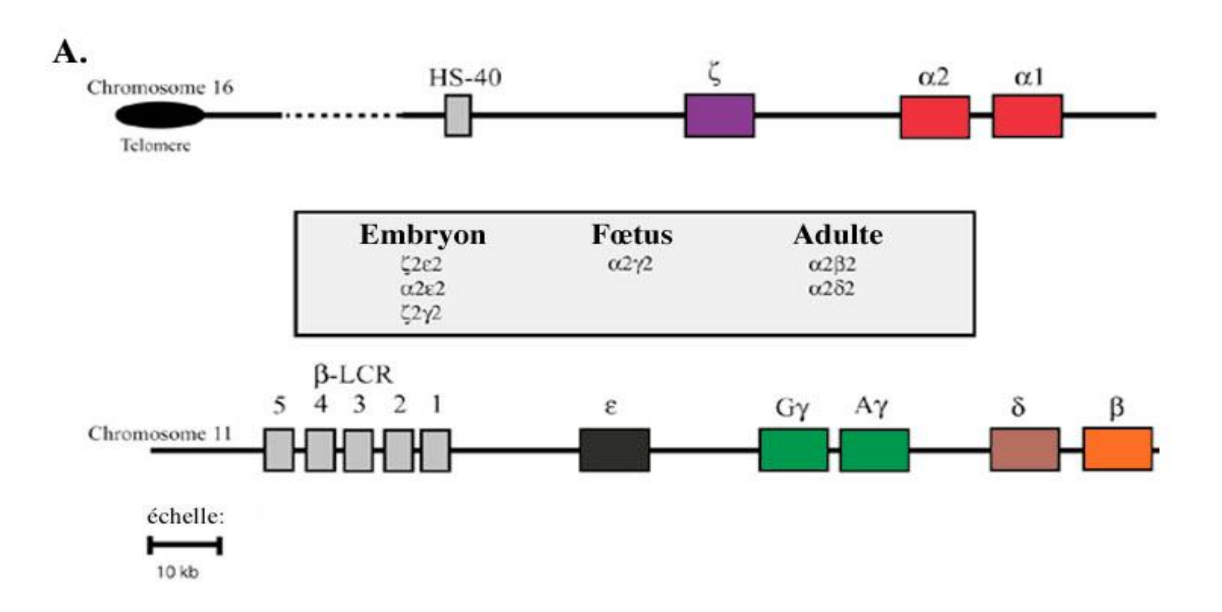


Figure 4. Structure de l'hémoglobine humaine adulte (α2β2)
L'hémoglobine (a) est constituée de 4 chaînes de globine (2 chaînes α et 2 chaînes β) portant chacune un groupement prosthétique hème (b) contenant un atome de fer [24].

Les gènes codant pour les chaînes de globines sont organisés chez l'homme en deux clusters: le locus α qui contient le gène embryonnaire ζ et les deux gènes adultes α, et le locus β qui contient les gènes ε, Gγ, Aγ, δ et β (Figure 5A). L'hémoglobine change en effet de composition au cours du développement à la suite des changements d'expression (« switch ») des gènes codant pour les chaînes de globines pendant les trois stades d'érythropoïèse (Figure 5B). Un premier switch a lieu lors de la transition de l'érythropoïèse embryonnaire (sacvitellin) à l'érythropoïèse définitive (foie fœtal) : le gène de l'hémoglobine fœtale est exprimé au détriment de celui de l'hémoglobine embryonnaire. Le deuxième switch, entre l'hémoglobine fœtale et adulte, a lieu pendant la période périnatale. Ces régulations d'expression de gènes sont dépendantes du LCR (Locus Control Region) présent en amont du cluster β globine et d'HS40 (zone d'hypersensibilité à la DNAse I) en amont du cluster αglobine (Figure 5A). Au cours du développement et de la différenciation

érythropoïétique, les gènes sont exprimés séquentiellement : les gènes exprimés précocement sont ceux situés près du LCR et les gènes adultes se trouvent en 3’ [25].



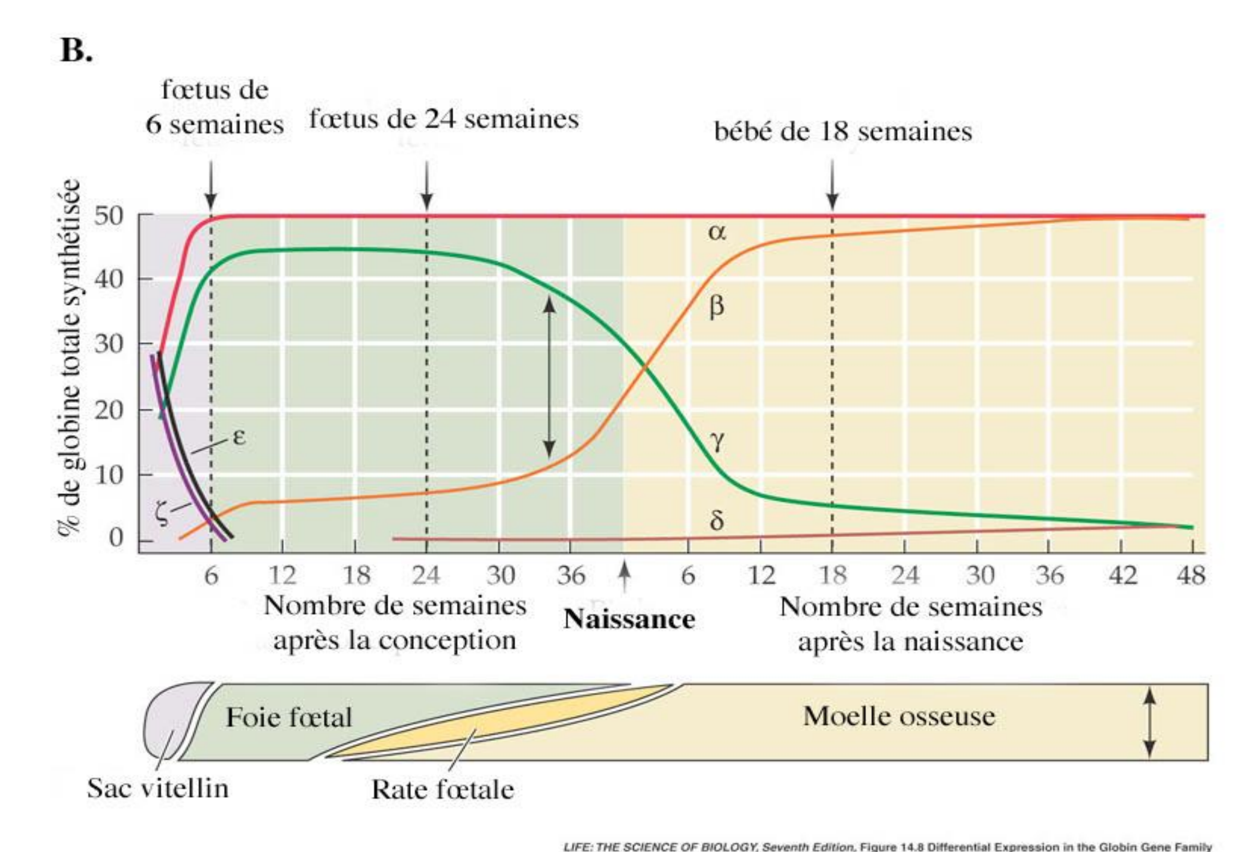


Figure 5. Synthèse des chaînes de globine [25]

A. Les deux clusters de gènes codant pour les globines sont situés sur les chromosomes 16 et 11. La composition des hémoglobines embryonnaires, fœtales et adultes est donnée dans le cadre entre les clusters

B. Graphique représentant les quantités des différentes chaînes de globines au cours du développement. Le lieu de synthèse des globines est indiqué en dessous

I.1.3.3. La synthèse de l'hème

La synthèse de l'hème est partagée dans deux compartiments de la cellule, le cytosol et la mitochondrie (Figure 6). La première étape a lieu dans la mitochondrie : à partir de glycine et de succinyl-CoA, l'ALA (δ-aminolevulinate) synthase forme l'ALA. Cette enzyme est présente sous deux formes, une forme érythroïde, eALAS ou ALAS2, qui présente la particularité d'être sensible au fer via le système IRE/IRP (voir « Système IRP/IRE ») et une forme ubiquiste, ALAS1 dont l'expression génique est réprimée par l'hème. Cette étape est l'étape limitante de la biosynthèse de l'hème (Figure 6). Des mutations du gène *eALAS* situé en Xp11.21 entraînent chez l'homme une anémie sidéroblastique liée au chromosome X. Chez ces patients, le fer ne peut être incorporé dans l'hème et s'accumule dans la mitochondrie.

L'ALA est ensuite exporté de la mitochondrie. L'assemblage du tetrapyrrole et la décarboxylation des chaînes auxiliaires ont lieu dans le cytosol. Les étapes finales de synthèse de l'hème se déroulent dans la mitochondrie avec notamment l'incorporation du fer par la ferrochélatase (Figure 6).

Des mutations dans les gènes codant pour les enzymes impliquées dans les étapes finales de la synthèse de l'hème conduisent à l'accumulation de porphyrines. Il existe ainsi plusieurs formes de porphyries liées à la déficience de différentes enzymes : les porphyries les plus fréquentes sont liées à des mutations dans le gène codant pour l'uroporphyrinogen décarboxylase, c'est la porphyrie cutanée et à des mutations dans le gène de la ferrochélatase, c'est la porphyrie érythropoïétique. Dans les deux cas, l'accumulation de porphyrines dans la peau ou dans les tissus sous-jacents entraîne une photosensibilisation accrue.

Il est à noter que récemment a été identifié un exporteur de l'hème, appelé FLVCR (Pour Feline Leukemia Virus subgroup C Receptor), qui pourrait jouer un rôle important dans le contrôle du contenu en hème des précurseurs érythroïdes [26]. Son rôle exact reste néanmoins à définir. De plus, des transcrits de la ferroportine, exporteur du Fe^{2+}, ont été retrouvés très récemment dans des lignées érythroïdes [27]. La présence d'exporteurs de différentes formes de fer dans les précurseurs érythroïdes suggèrent que ces cellules sont capables de faire sortir du fer en excès et d'éviter ainsi la formation de radicaux libres à l'intérieur de la cellule. Cette capacité des précurseurs érythroïdes à faire sortir du fer est assez inattendue car on considère habituellement que ces cellules consomment tout le fer qu'elles contiennent pour la synthèse d'hémoglobine.

En cas de déficience en fer, la synthèse d'hémoglobine est perturbée, les GR produits contiennent alors moins d'hémoglobine qui leur donne leur couleur, on parle alors d'anémie hypochrome.

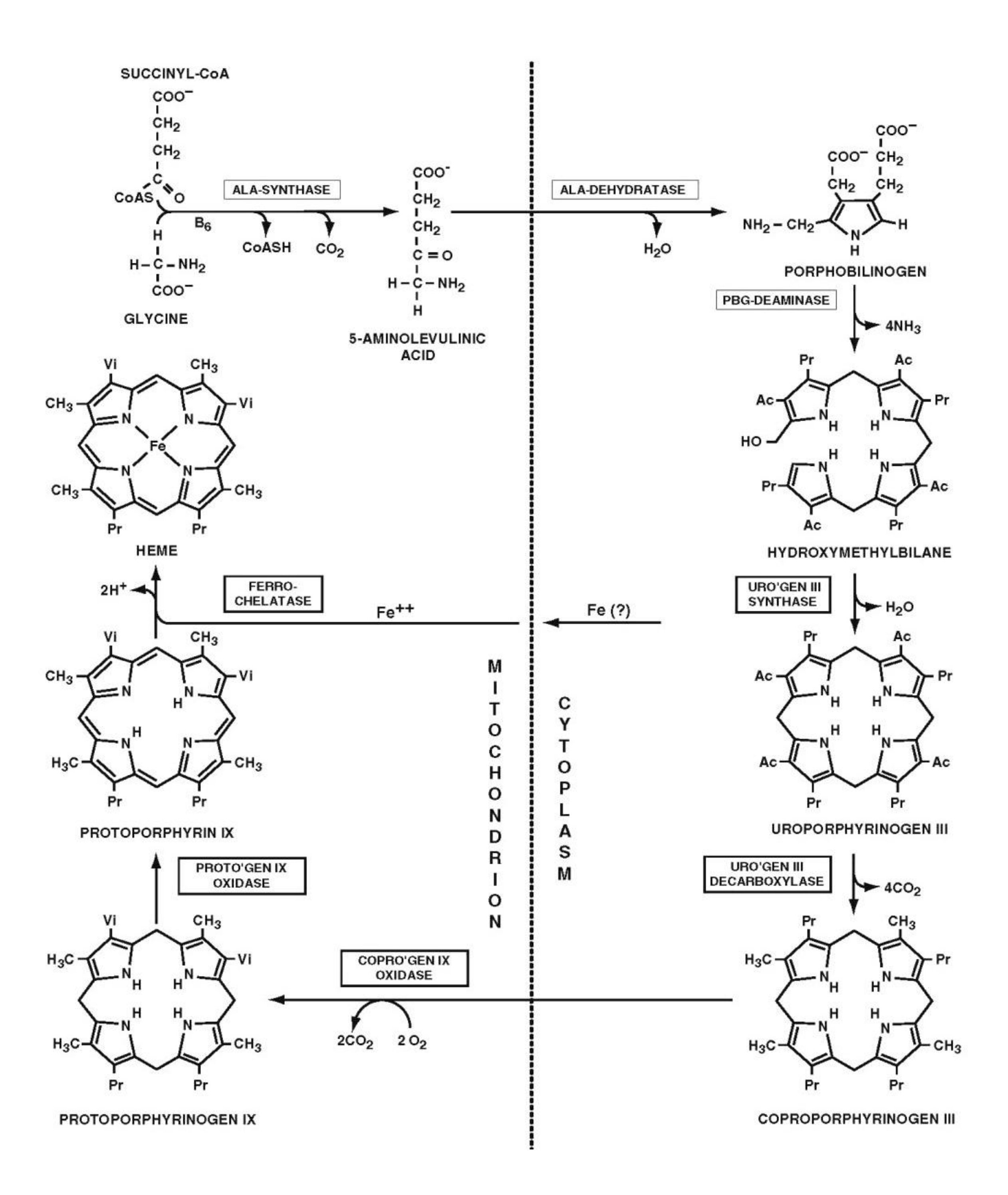


Figure 6. Biosynthèse de l'hème [28]

ALA: δ-aminolevulinate; ALAS: δ-aminolevulinate synthase; PBG: porphobilinogen; UPG: uroporphyrinogen; CPG: coproporphyrinogen; PPG: protoporphyrinogen. A: acétyl ; M: méthyl ; P: propionyl; V: vinyl

I.1.4. Réutilisation du fer des GR (recyclage) érythrophagocytose

Nous l'avons vu, les érythrocytes circulants contiennent une grande quantité de fer (presque 2 g sur les 4 g totaux de l'organisme). Afin que ce fer puisse être réutilisé par l'organisme, les macrophages phagocytent les globules rouges sénescents, dont la durée de vie est de 120 jours chez l'homme, et exportent ensuite le fer, c'est l'érythrophagocytose (EP) (Figure 7).

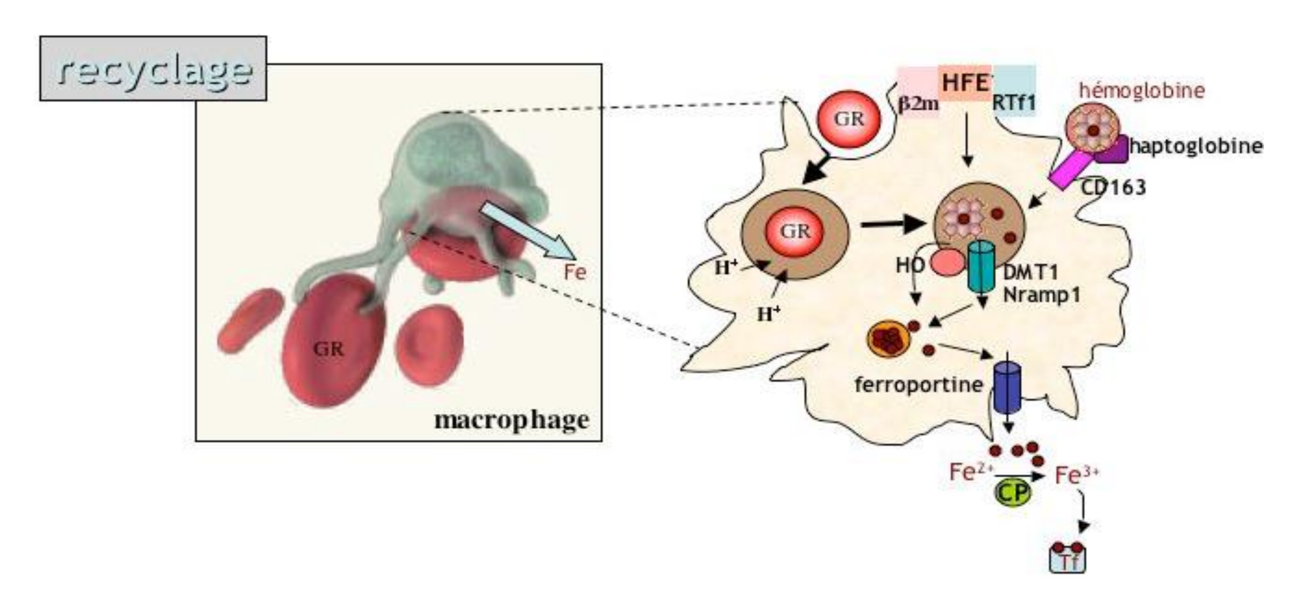


Figure 7. Érythrophagocytose et recyclage du fer [5]

Les globules rouges (GR) sénescents sont phagocytés par le macrophage. Ils sont dégradés et, à l'aide de l'hème oxygénase (HO), le fer est libéré de l'hémoglobine. D'autres voies possibles d'entrée du fer dans le macrophage impliquent le complexe HFE-β2m-RTf1 et le complexe haptoglobine-hémoglobine circulant qui se lie au récepteur CD163 et subit l'endocytose. L'hémoglobine est dégradée par HO pour libérer le fer. Le fer est alors, soit stocké dans la ferritine, soit recyclé. Il est ainsi exporté par la ferroportine puis oxydé par la céruloplasmine (CP) circulante avant d'être pris en charge par la transferrine (Tf) circulante.

Les GR sénescents sont reconnus par les macrophages grâce à:

- l'externalisation de la phosphatidylsérine à la surface des GR ;
- la peroxydation des lipoprotéines membranaires suite au stress oxydatif ;
- la perte de résidus sialiques ;
- la formation de néoantigènes de sénescence.

Le GR sénescent, phagocyté par le macrophage, se retrouve dans l'érythrophagolysosome. Le complexe enzymatique formé par la NADPH-cytochrome c réductase, l'hème-oxygénase-1 (HO-1) et la biliverdine réductase dégrade l'hème en CO (monoxyde de carbone), fer et bilirubine. Les souris KO *HO-1* ne sont pas capables de recycler le fer des GR, suggérant un rôle essentiel d'HO-1 dans l'EP. Toutefois, on remarque que, dans ces souris, l'hème est quand même dégradé en fer, peut-être par compensation par HO-2 [29].

Deux hypothèses sont émises quant à la destinée du fer suite à la dégradation de l'hème: il serait soit transféré au cytosol via le DMT1, soit, l'hème ayant diffusé à travers la membrane plasmique de l'érythrophagolysosome, le fer serait libéré directement dans le cytosol. Le fer est ensuite stocké dans la ferritine et/ou exporté dans la circulation par la ferroportine où il peut de nouveau se fixer à la Tf après oxydation par la céruloplasmine (CP) [30,31] (Figure 7). Il semble y avoir deux phases de sortie du fer des macrophages après EP : une phase rapide dans les quelques heures qui suivent l'EP et qui fait sortir deux tiers du fer et une phase plus lente qui impliquerait le déstockage du fer de la ferritine [32]. L'EP permet ainsi de recycler le fer principalement pour réalimenter en fer l'érythropoïèse. Afin d'étudier les mécanismes encore peu connus intervenant dans l'EP, l'équipe de F. Canonne-Hergaux a récemment mis au point un modèle d'étude de l'EP en utilisant des macrophages, différenciés à partir de moelle osseuse de souris, incubés avec des GR murins dont la concentration intracellulaire de calcium a été augmentée [33].

L'érythrophagocytose a lieu essentiellement dans la pulpe rouge de la rate mais pas seulement. En effet, des souris ayant subi une splénectomie ne voient pas la durée de vie de leur GR augmenter laissant suggérer que les macrophages de la moelle osseuse et les cellules de Kupffer sont capables de compenser la perte des macrophages spléniques pour l'EP [34].

Ce sont ainsi 80 à 90% des GR qui sont éliminés par voie extravasculaire par les macrophages tissulaires. Les 10 à 20% restant subissent une hémolyse intravasculaire qui entraîne la libération d'hémoglobine dans le sang. Cette hémoglobine se lie à l'haptoglobine circulante. Le complexe haptoglobine-hémoglobine est ensuite capté par les macrophages qui possèdent un récepteur spécifique de l'haptoglobine, le CD163 (Figure 7), et par les hépatocytes par un mécanisme encore inconnu [35]. Ainsi, très peu d'hémoglobine libre est retrouvée dans le sang. Il peut arriver néanmoins que dans des situations de forte hémolyse (par exemple dans les thalassémies4), l'hémoglobine ne puisse être entièrement titrée par l'haptoglobine. L'hémoglobine se dissocie alors dans le sang et peut être filtrée par le glomérule via le récepteur mégaline-cubiline ou dégradée après liaison avec des protéines de transport de l'hème par le foie (voir ci-dessous).

I.1.5. Stockage du fer

Le site majeur de stockage du fer est le foie (1 g). Le foie est un organe qui assure de multiples fonctions vitales : synthèse et sécrétion de la bile, métabolisme des sucres, des lipides et des protéines de détoxification, stockage de la vitamine B12... Le foie reçoit deux systèmes vasculaires afférents : le sang arrive au foie par la veine porte hépatique qui contient les éléments digérés au niveau du duodénum et par l'artère hépatique, riche en oxygène (O_2).

Le foie est capable d'accumuler le fer lié à la ferritine pour empêcher la circulation d'une trop grande quantité de fer libre. Ce fer lié à la ferritine est facilement mobilisable et les réserves hépatiques sont utilisées en cas de carence en fer (suite à une perte importante de sang ou à un régime pauvre en fer).

Le fer parvient jusqu'au foie par l'espace porte principalement sous la forme d'holoTf. Mais, nous l'avons vu, les hépatocytes sont capables de récupérer les complexes haptoglobine-hémoglobine par une voie encore inconnue. L'hémoglobine complexée à l'haptoglobine et l'hème lié à l'albumine puis à l'hémopexine par le récepteur à l'hémopexine sont pris en charge par l'hépatocyte, mais les mécanismes sont mal connus. L'hémoglobine et l'hème sont ensuite dégradés par l'HO. La bilirubine produite sera ensuite sécrétée dans la bile (Figure 8).

Une autre forme de fer, non lié à la transferrine et appelé NTBI, peut également être récupérée par les hépatocytes. Cette dernière forme de fer est très toxique et ne serait présente qu'en cas de surcharge martiale pathologique une fois la capacité de liaison de la transferrine dépassée comme lors d'une hémochromatose [36].

Les molécules impliquées dans l'entrée et la sortie du fer de l'hépatocyte ne sont pas clairement établies (Figure 8). Pour le captage du fer par l'hépatocyte, on pense que le NTBI serait transporté à travers la membrane par le transporteur DMT1 [37,38]. Le fer lié à la Tf serait capté, lui, par le récepteur transferrine 2 (RTf2). Ce dernier a une affinité beaucoup moins forte pour l'holoTf que son homologue RTf1 mais il est présent en grande quantité dans les hépatocytes. Il a également été montré que bien que l'ARNm RTf2 soit insensible au fer, les taux de protéine RTf2 sont augmentés par le fer [39,40,41], contrairement à RTf1 (régulé, lui, négativement par le fer via le système IRE/IRP, voir «Système IRP/IRE »). Une autre différence est que RTf2, contrairement à RTf1, ne semble pas interagir avec HFE [42].

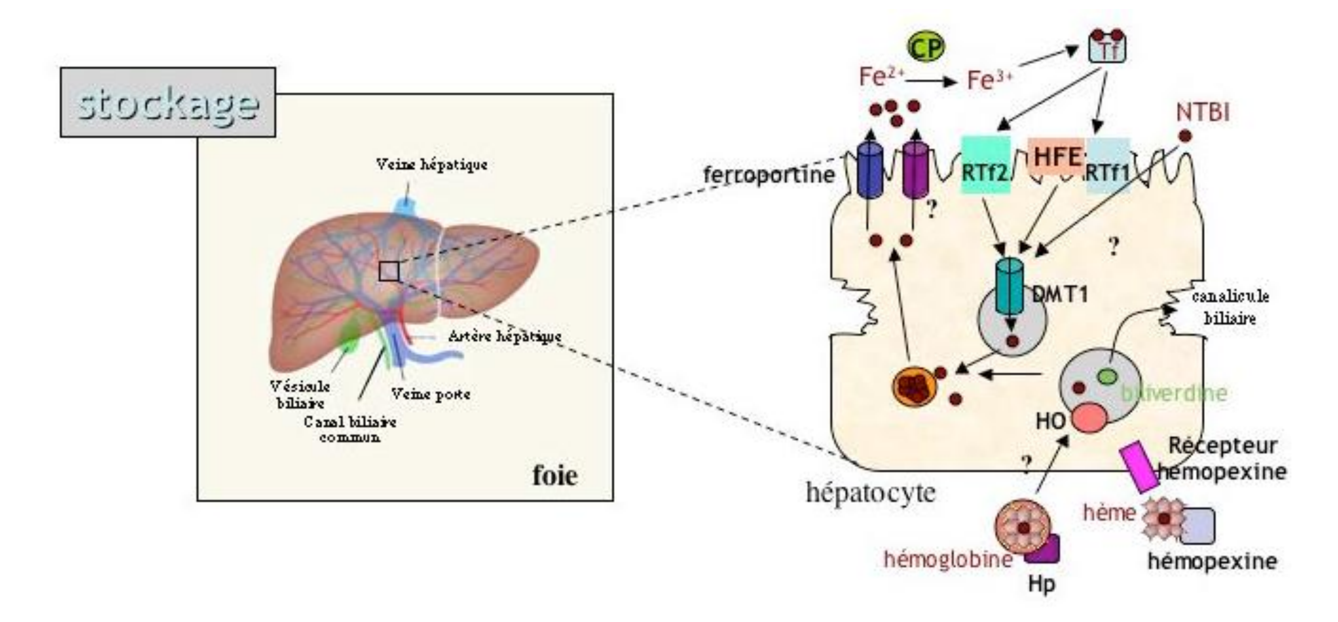


Figure 8. Entrée et sortie du fer de l'hépatocyte [5]
Le fer non héminique lié à la transferrine (Tf) est capté par RTf1 (qui interagit avec HFE) ou RTf2 puis libéré après endocytose. Le fer non lié à la transferrine (NTBI) pourrait être pris en charge directement par DMT1 via un mécanisme inconnu. Le fer héminique est transporté, soit par l'haptoglobine, soit par l'hémopexine jusqu'à l'hépatocyte. L'hémopexine est reconnue par son récepteur. Dans l'hépatocyte, le fer héminique est libéré après dégradation de l'hème par l'hèmeoxygénase (HO). Le fer est stocké sous forme de ferritine. La sortie du fer de l'hépatocyte en situation de demande accrue (ex : érythropoïèse augmentée) est encore mal connue, elle pourrait impliquer la ferroportine et/ou un autre transporteur. Le fer exporté est oxydé par la céruloplasmine circulante (CP) et se lie du nouveau à la transferrine.

En cas de carence en fer ou lorsque des patients atteints d'hémochromatose sont phlébotomisés (voir plus loin), le foie est capable de mobiliser ses réserves afin de satisfaire les besoins accrus en fer pour l'érythropoïèse. La ferroportine est le seul exporteur de fer cellulaire connu à ce jour et représente donc un candidat potentiel pour l'export de fer des hépatocytes (Figure 8). Ainsi, l'absence de ferroportine dans des souris KO ferroportine conduit à une accumulation de fer dans l'hépatocyte [43].

Outre les hépatocytes, les cellules de Kupffer constituent, comme les autres macrophages tissulaires, des réservoirs potentiels de fer du fait de leur capacité d'EP (voir ci-dessus Figure 7).

II. Molécules impliquées dans le métabolisme du fer

II.1. Protéines de liaison du fer : la transferrine (Tf), la lactoferrine et la lipocaline neutrophile

II.1.1.Transferrine (Tf)

La transferrine a été découverte en 1946 dans le plasma et a d'abord été appelée sidérophiline pour son affinité pour le fer. C'est une glycoprotéine sérique (de masse relative environ 80 kDa). Elle est composée de 679 acides aminés qui forment deux lobes, un lobe N-terminale et un lobe C-terminale. Chaque lobe peut lier un ion ferrique (Fe^{3+}). La conformation de la protéine est sensible au pH : à pH acide, le site de liaison du fer s'ouvre, facilitant la libération du fer. Le gène présente un grand nombre de polymorphismes tolérés dans la population avec 3 isotypes majeurs nommés B, C et D [44].

La transferrine est principalement produite à l'âge adulte par les hépatocytes (6500 molécules de Tf par cellule [40]). Il existe également d'autres sites d'expression du gène *Tf* : le cerveau (83 molécules / cellule) et les testicules (114 molécules /cellule) [40]. Pendant le développement fœtal, le gène *Tf* est fortement exprimé dans le muscle et les tissus non-hépatiques et non-nerveux puis l'expression diminue lors du développement postnatal. À l'inverse, dans le cerveau, le gène *Tf* est faiblement exprimé à la naissance et l'expression augmente avec l'âge jusqu'à atteindre un plateau à l'âge adulte [45].

Seule l'expression hépatique de *Tf* est modulée par le contenu en fer: un régime pauvre en fer augmente la transcription de *Tf* dans le foie sans modifier l'expression extra-hépatique [40]. De même, la synthèse de Tf est induite par traitement aux glucocorticoïdes ou aux œstrogènes. La Tf est également une protéine de la réponse inflammatoire, elle est diminuée par les cytokines. Enfin, s'ajoute à ces régulations une régulation positive en situation d'hypoxie [46].

L'absence de Tf circulante chez des patients est très rare (seulement 8 patients recensés dans 6 familles différentes), c'est l'atransferrinémie [47], caractérisée par une anémie microcytaire associée à une surcharge en fer tissulaire. Les patients sont traités par des transfusions sanguines. En absence de Tf, les précurseurs érythroïdes ne sont pas approvisionnés en fer, ce qui entraîne l'anémie. La surcharge en fer associée est due, d'une part à l'accumulation du fer non lié à la transferrine (NTBI) dans les organes, et, d'autre part, à une augmentation de l'absorption intestinale de fer pour compenser l'anémie [48].

II.1.2. Lactoferrine

La lactoferrine fait partie de la famille des transferrines [49]. Elle est capable de lier le fer avec plus d'affinité que la Tf. Elle est retrouvée dans le lait, les sécrétions muqueuses, la sueur et les granules des neutrophiles. Le gène du récepteur de la lactoferrine est exprimé par les lymphocytes et cette expression est associée à l'activation des lymphocytes. Ainsi, la lactoferrine joue un rôle important dans la réponse immunitaire en régulant la prolifération et l'activation des lymphocytes mais aussi des cellules Natural Killer et des monocytes [50]. La lactoferrine a de plus une activité antibactérienne. Mais elle ne semble pas avoir de rôle essentiel dans le métabolisme du fer car en absence de lactoferrine (souris KO lactoferrine) aucune perturbation du métabolisme du fer n'est observée [51].

II.1.3. Lipocaline neutrophile (NGAL ou 24p3)

La lipocaline neutrophile NGAL (Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin) est une petite protéine soluble de 25kDa [52]. Elle est présente dans les granules de neutrophiles et dans les cellules épithéliales en réponse à des signaux inflammatoires. NGAL a été initialement impliquée dans la différenciation cellulaire, la tumorigénèse et l'apoptose. Son rôle dans ces différents mécanismes reste à ce jour mal connu. En 2002, une équipe américaine a permis d'établir que NGAL est capable de se lier à des sidérophores contenant du Fe^{3+} et chargés négativement. Contrairement à la Tf et à la lactoferrine, NGAL n'est pas capable de se lier aux ions fer directement car ils sont chargés positivement. La liaison de NGAL à des sidérophores serait spécifique aux sidérophores de type catecholate [53]. Ainsi, NGAL produite dans une situation d'inflammation serait capable de détourner le fer utilisé par les bactéries et essentiel à leur survie, elle aurait par cette propriété une action complémentaire à la lactoferrine.

Chez la souris, la protéine Ngal est retrouvée dans un compartiment intracellulaire de progéniteurs épithéliaux du rein différent de celui où l'on retrouve la Tf [20]. Des études de transport du complexe lipocaline neutrophile-sidérophore ont montré qu'il existait un récepteur pour NGAL au niveau des cellules épithéliales du rein [20]. Le gène de ce récepteur semble être exprimé dans un grand nombre de tissus et sa surexpression dans des cellules confirment le rôle de Ngal dans le transport de fer et l'apoptose [54]. Ces deux rôles seraient exclusifs en fonction de la liaison ou non de Ngal avec un complexe contenant du fer [54].

II.2. Ferritine : la protéine de stockage

La ferritine a été cristallisée en 1937 à partir de rate de cheval (c'était la deuxième protéine cristallisée après la peroxydase de raifort). La ferritine est formée de 24 sous-unités de types H (heavy, chaîne lourde) et/ou L (light, chaîne légère) (Figure 9). Chaque molécule de ferritine de 450 kDa peut séquestrer jusqu'à 4500 atomes de fer.

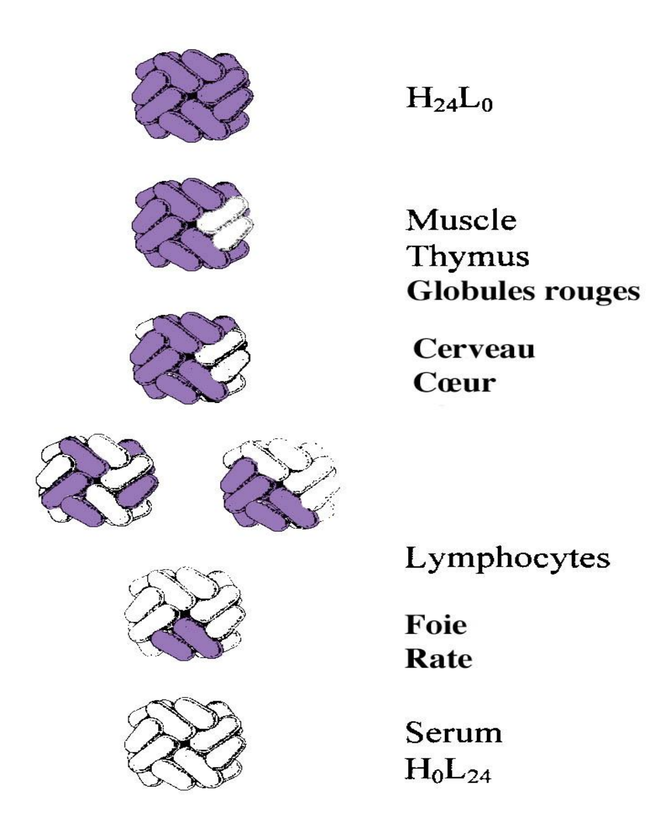


Figure 9. Proportion des sous-unités lourdes (H) et légères (L) composant la ferritine dans différents tissus : Les homopolymères de sous-unités H ($H_{24}L_0$) et L (H_0L_{24}) sont représentés respectivement en haut et en bas de la figure et les hétéropolymères de contenu décroissant en sous-unité H sont placés entre les homopolymères. Les tissus sont placés en fonction de leur quantité relative de sous-unités H et L à droite de la figure (Ex : ferritine musculaire $H_{20}L_4$, ferritine hépatique $H_{2\text{-}3}L_{22\text{-}21}$) [9].

Seules les sous-unités H sont capables d'oxyder le fer, produisant à chaque oxydation du peroxyde d'hydrogène, composé réactif qui pourrait être à l'origine de la formation de l'hémosidérine (voir ci-dessous). Les sous-unités L seraient capables de former des centres de nucléation de fer plus facilement et donc de stocker plus de fer. Les cellules contenant de la ferritine riche en sous-unités L sont celles qui sont chargées du stockage du fer (hépatocytes, macrophages) (Figure 9). Les ferritines riches en sous-unités H se retrouvent dans le cœur et le cerveau (Figure 9).

La ferritine sérique, souvent utilisée en clinique pour évaluer les stocks en fer ou l'état inflammatoire, est composée essentiellement de sous-unités L dont une partie est glycosylée. Elle est sécrétée par les hépatocytes et les macrophages, mais son mode de sécrétion est encore mal connu. En effet, la ferritine ne contient pas de site consensus de type peptide signal guidant la protéine dans la voie de sécrétion. Une étude récente dans des lignées hépatomateuses tend à montrer que la ferritine sérique est issue du même transcrit que la ferritine cytoplasmique et que, c'est au moment de la traduction de cet ARNm unique, sous la dépendance d'un facteur sérique non encore identifié, que se constitue un pool de protéines à destinée cytoplasmique et un pool de protéines à destinée de sécrétion [55].

Enfin, il existe une forme mitochondriale de la ferritine impliquée dans l'accumulation de fer retrouvée dans les anémies sidéroblastiques (voir « Erythropoïèse et synthèse de l'hémoglobine ») [56]. Cette troisième ferritine codée par un gène de l'ADN nucléaire, possède le même site ferroxydase que la ferritine H et un site d'export vers la mitochondrie [57].

L'hémosidérine se trouve dans les tissus surchargés en fer, elle est issue de la dégradation de la ferritine dans des lysosomes. Les lysosomes contenant de l'hémosidérine sont appelés sidérosomes. C'est l'hémosidérine que l'on détecte lorsqu'on fait une coloration de Perls au bleu de Prusse7.

L'ARNm de la ferritine contient dans sa région 5'UTR un IRE. Cet élément de régulation est reconnu par les protéines IRP produites en situation de déficience en fer qui se fixent sur l'IRE, empêchant la traduction de la ferritine (voir « Système IRP/IRE»). La ferritine H est également augmentée par le fer par une activation de la transcription de son gène [58].

Les cytokines inflammatoires entraînent une production plus importante de ferritine par augmentation de la transcription du gène codant pour la ferritine H et de la traduction des ARNm des ferritines H et L [59,60]. Ainsi, une augmentation de la ferritine sérique n'est pas forcément liée à une augmentation des réserves en fer, mais peut traduire, dans les syndromes inflammatoires, une action directe des cytokines sur la synthèse de ferritine. Enfin, il est à noter que l'expression du gène codant pour la ferritine H est diminuée par l'oncogène c-myc [61].

II.3. Les transporteurs membranaires de fer : DMT1, Nramp1, ferroportine

II.3.1. DMT1

DMT1 pour Divalent Metal Transporter 1 est appelé aussi Divalent Cation Transporter 1 (DCT1) [62], Nramp2 (Natural resistance associated macrophage protein 2 [63] car il est homologue à 78% à Nramp1) et Slc11a2 (Solute carrier family 11 de la famille des transporteurs d'ions métal divalents couplés aux protons). DMT1 est une protéine à 12 domaines transmembranaires permettant le transport d'un grand nombre de cations divalents (au moins in vitro) : Fe^{2+}, Mn^{2+}, Ni^{2+}, Co^{2+}, Cd^{2+}, Zn^{2+}, grâce à un gradient de protons. Cette protéine ne peut donc transporter le fer qu'à la faveur d'un pH acide (lumière duodénale contenant des sucs gastriques ou endosome acidifié). Elle n'est pas capable de transporter le fer ferrique (Fe^{3+}) ce qui nécessite la présence d'une ferriréductase en amont de DMT1 car le Fe^{2+} soluble est rare car toxique. DMT1 est un transporteur présent de façon ubiquiste, mais dont l'ARNm est présent en grande quantité dans le duodénum de souris déficientes en fer et dans le rein [64].

Le rôle de DMT1 a pu être mis en évidence par l'étude de mutants naturels chez la souris et le rat : la souris *mk* (pour microcytic anemia) et le rat Belgrade *(b)* présentent une anémie microcytaire hypochromique sévère et peu d'animaux survivent jusqu'au sevrage. Il a été montré que dans ces deux modèles rongeurs existe une mutation du gène codant pour DMT1 convertissant la glycine située en position 185 (en prenant la numérotation de l'isoforme 1B) en arginine (G185R) [65,10]. La substitution G185R entraîne une mauvaise localisation de DMT1 dans l'entérocyte, DMT1 se retrouvant à l'intérieur de la cellule au lieu d'être à la surface apicale [66]. La mutation n'affecte pas seulement la fonction de DMT1 au niveau du duodénum puisque l'administration de fer parentérale ne restaure pas la déficience en fer des globules rouges montrant ainsi le rôle primordial de DMT1 dans l'acquisition du fer par les précurseurs érythroïdes (voir le cycle Tf/RTf) [67].

La création de souris KO *Slc11a2* conditionnel tissu spécifique utilisant la technique Cre/LoxP a permis de confirmer le rôle primordial de DMT1 dans l'absorption intestinale de fer et dans le cycle Tf-RTf1 des précurseurs érythroïdes [68]. En revanche, la présence d'une surcharge en fer dans ces souris indique que DMT1 n'est pas essentiel pour l'entrée du fer dans l'hépatocyte [68] et remet en cause le rôle de DMT1 dans l'acquisition du NTBI par les hépatocytes suggéré par l'équipe de D. Trinder [37,38].

Récemment ont été décrits des patients présentant des mutations dans le gène *SLC11A2* [69, 70]. Ces patients ont une anémie sévère et, contrairement aux modèles *mk* et *Belgrade*, une surcharge tissulaire en fer. Il semble que, chez ces patients, le déficit de DMT1 au niveau duodénal soit compensé par d'autres voies d'entrée du fer (augmentation de l'absorption du fer héminique par exemple) et que l'anémie s'explique par une érythropoïèse inefficace. La surcharge en fer associée est probablement liée au stockage du fer non utilisé par les précurseurs érythroïdes. Cette hypothèse est renforcée par l'expérience de transplantation de cellules souches hématopoïétiques KO *Slc11a2* dans une souris irradiée portant le gène sauvage : un défaut uniquement au niveau hématopoïétique suffit à reproduire à la fois l'érythropoïèse inefficace et la surcharge en fer hépatique [68].

II.3.2. Nramp1

Nramp1 (Natural resistant associated macrophage protein 1) tient son nom du fait que des souris mutées pour ce gène présentent une susceptibilité accrue aux infections par des pathogènes intracellulaires [71]. Nramp1, récemment renommée Slc11a1 (de la même famille que Nramp2 alias DMT1), est une protéine très hydrophobe de 56 kDa, formant 12 domaines transmembranaires, présente exclusivement dans les monocytes et macrophages [71]. Nramp1 est localisée dans les lysosomes et les endosomes tardifs et recrutée rapidement à la membrane des phagosomes matures. La transfection d'une lignée de macrophages dépourvue de Nramp1 endogène (lignée RAW264.7) avec des constructions portant la séquence codante de Nramp1 a permis de démontrer son rôle de transporteur de fer au niveau du phagosome [72,73]. Ce transport pourrait se faire dans les deux sens (vers l'intérieur du phagosome ou vers le cytosol) en fonction du pH.

II.3.3. Ferroportine

Découverte indépendamment par trois groupes différents, elle a hérité de trois noms différents : Ferroportin1 ou ferroportin [74], Ireg1 (Iron regulated protein 1) [75], MTP1 (Metal Transporter Protein 1) [76], pour s'appeler par la suite Slc11a3 (solute carrier family 11 member 3) et Slc40a1 (solute carrier family 40 member 1). C'est à ce jour le seul exporteur cellulaire de fer connu.

Sa topographie (de 9 à 12 domaines transmembranaires) [77,78] et sa présence sous forme de dimère [79] ou monomère [80] sont encore sujettes à controverse. La ferroportine est retrouvée dans le duodénum à la membrane basolatérale des entérocytes [75], faiblement dans les hépatocytes [76,74], dans les macrophages de la rate, des poumons [81] et du foie [76,74], dans le placenta [75], dans le cerveau [76,82], dans le rein et dans le cœur [76].

La ferroportine, comme la ferritine, porte un IRE dans la partie 5'UTR de son ARNm (voir Système IRP/IRE). Il a été montré, qu'in vitro cet IRE est fonctionnel dans trois lignées cellulaires : HepG2 (lignées hépatomateuse), CaCo2 (lignée de carcinome intestinal) et U937 (lignée lympho-monocytaire) [83]. Très récemment, il a été décrit, dans les cellules érythroïdes, l'existence de transcrits alternatifs de la ferroportine avec des formes ne possédant pas d'IRE. Selon les auteurs, la présence de ces formes dépourvues d'IRE pourrait expliquer l'absence de régulation de la ferroportine par le fer dans ces cellules [27].

Il semble admis que la ferroportine est produite en plus grande quantité dans un macrophage traité au fer, via une augmentation des taux d'ARNm et une augmentation de la traduction, comme attendue, par le système IRP/IRE [84,85]. En revanche, dans le duodénum, la ferroportine semble répondre essentiellement à une régulation systémique plus qu'à un stimulus local [86,87]. En effet, dans le duodénum, la ferroportine est augmentée et non diminuée en situation de déficience en fer [75]. Cette régulation systémique de la ferroportine a été élucidée récemment par la découverte du rôle de l'hepcidine : l'hepcidine est capable de lier la ferroportine et conduit à son internalisation et sa dégradation ex vivo [88]. Ces résultats ont, par la suite été reproduits par une autre équipe [89] et la diminution des taux protéiques de ferroportine par l'hepcidine a été retrouvée in vitro dans les macrophages [90,91].

Le traitement de macrophages au lipopolysaccharide (LPS), entraînant une réaction inflammatoire, conduit à la diminution du taux d'ARNm codant pour la ferroportine [81]. Cette diminution de la transcription par un mécanisme encore inconnu pourrait expliquer en partie la rétention de fer dans les macrophages des patients ayant une inflammation.

II.4. Les ferriréductases : Dcytb et Steap3

II.4.1. Dcytb

La réductase Dcytb (Duodenal Cytochrome b ou Cybrd1) a été clonée en 2001[92]. Dcytb est une protéine membranaire présente à la surface apicale des entérocytes. Elle est également présente dans le foie et la rate [93]. Elle contient deux sites potentiels de fixation de l'hème. Elle est homologue au cytochrome b561. La quantité de Dcytb est augmentée dans le duodénum de souris anémiques (modèle *hpx*, voir paragraphe « transferrine ») et en situation d'hypoxie [92], ou de souris en régime pauvre en fer [92].

Le rôle de Dcytb dans l'absorption intestinale a été récemment remis en cause par la création de souris KO pour ce gène [4]. Ces souris ne présentent en effet pas d'anémie ou de diminution des réserves en fer comme on pouvait s'y attendre et tel que l'on peut l'observer chez les animaux mutés pour le transporteur DMT1 [10,68] (voir ci-dessus).

II.4.2. Steap3

Steap 3 pour Six-Transmembrane Epithelial Antigen of the Prostate 3 (aussi appelée pHyde, TSAP6 et Dudulin2) a été identifiée par l'étude des souris mutantes *nm1504* comme la ferriréductase endosomale impliquée dans la capture du fer après endocytose de l'holoTf. Les souris *nm1504* ont un phénotype pléiotropique (alopécie, infertilité mâle, hydrocéphalie, anémie hypochromique microcytaire) due à une large délétion génomique (41,6 Mb) [94]. Le gène responsable de l'anémie, *Steap3*, a été identifié par clonage positionnel et son rôle direct a été démontré par des expériences de restauration de l'anémie des souris *nm1504* par l'apport de Steap3 sauvage [11]. Cette protéine est une protéine transmembranaire contenant deux histidines capables de lier une molécule d'hème et elle possède une activité ferriréductase NAD(P) H dépendante. Elle est synthétisée dans les tissus hématopoïétiques et dans le foie adulte. Dans le foie des souris *nm1504*, le déficit en Steap3 est probablement compensé par d'autres réductases.

II.5. Les ferroxydases : la céruloplasmine et l'héphaestine

II.5.1. Céruloplasmine (CP)

La céruloplasmine est une ferroxydase circulante produite par le foie. La CP circulante facilite, par sa fonction d'oxydation du fer, la sortie du fer des cellules. Elle présentant une activité pphenylenediamine oxydase [95]. Sa couleur vient des trois atomes de cuivre qu'elle contient essentiels à son activité ferroxydase. Cette activité n'a été reconnue qu'en 1960 par l'équipe de Curzon [96] puis par celle de Osaki, Johnson et Frieden [97]. La demi-vie de la CP est de 5,5 jours dans le sang.

Dans l'hépatocyte, deux transcrits de 3,7 et 4,2 kb sont issus du gène codant pour la céruloplasmine et sont ensuite traduits pour former la protéine de 1046 acides aminés sécrétée dans le sang. Les sources extrahépatiques de CP sont moins abondantes, il s'agit de la rate et des poumons. De plus, dans le cerveau et les testicules, la CP est produite sous une forme ancrée à la membrane par un groupement GPI [98,99]. Cette forme de CP pourrait jouer un rôle dans le transport du fer à travers les barrières séparant le compartiment sanguin du cerveau et des cellules germinales. La CP est également détectable dans le sac vitellin et le foie foetal.

Le taux sérique de CP est augmenté lors d'une inflammation suite à l'augmentation de la transcription du gène dans les hépatocytes, la CP est à ce titre une protéine de la phase aiguë de l'inflammation [100]. La synthèse de CP est également augmentée par les oestrogènes. La présence d'un élément de réponse à HIF dans le promoteur du gène indique que la CP est induite en situation d'hypoxie [71].

L'absence de céruloplasmine par délétion génétique chez la souris entraîne l'accumulation du fer dans les hépatocytes et les macrophages, confirmant le rôle essentiel de la CP pour l'export du fer de ces cellules [101,102]. Dans les souris KO *Cp*, l'accumulation de fer dans le cerveau, caractéristique de l'acéruloplasminémie, est présente [101] ou non [103] selon le fond génétique des souris. Récemment, l'hypothèse d'un rôle de la céruloplasmine dans l'absorption intestinale de fer en situation d'anémie a été proposée par l'étude de souris KO *Cp* ayant subi des saignées [104].

II.5.2. Héphaestine

L'héphaestine est une protéine homologue à la céruloplasmine mais, elle n'est pas sécrétée, elle est intégrée à la membrane plasmique : elle possède un passage membranaire en position C-terminale [105]. Le gène codant pour l'héphaestine est fortement exprimé dans l'intestin grêle et faiblement dans le colon, le cerveau, la rate, les poumons et le placenta [106]. L'héphaestine n'est pas présente dans les cellules de la crypte, et, dans l'entérocyte, la protéine héphaestine est localisée dans un compartiment supranucléaire qui pourrait servir de réserve [106] et à la membrane basolatérale [107]. À la membrane basolatérale, elle permettrait l'oxydation du fer exporté par la ferroportine et ainsi la fixation du fer oxydé à la Tf.

La découverte de l'héphaestine s'est faite par l'étude de souris *sla* (pour sex linked anemia), mutation apparue après irradiation [105]. Ces souris présentent une anémie ferriprive associée à une surcharge en fer des entérocytes. L'étude génétique de ces souris a montré que le gène *Heph* est délété de 582 bases conduisant à la production d'une protéine tronquée [105]. Cette protéine tronquée, n'est plus présente à la membrane basolatérale de l'entérocyte mais uniquement dans le compartiment intracellulaire supranucléaire [107].

L'héphaestine, comme la ferroportine, semble être régulée au niveau protéique par un stimulus systémique plutôt que par les quantités de fer intracellulaires [87]. Elle ne possède pas d'IRE dans son ARNm. Dans la souris *sla*, qui est anémique et dont les entérocytes sont surchargés en fer, l'héphaestine est augmentée [87,105] comme chez les souris en régime pauvre en fer [108,106] alors que des souris traitées par un régime riche en fer expriment autant le gène *Heph* que des souris contrôles [87]. Aucune mutation dans le gène *HEPH* n'a été décrite à ce jour chez des patients atteints d'anémie ferriprive sévère.

II.6. Transport de l'hème : l'haptoglobine, l'hémopexine, HCP1 et FLVCR

II.6.1. Haptoglobine

L'haptoglobine est une protéine de la réponse inflammatoire aiguë. Elle est synthétisée par le foie et induite par des cytokines telles l'IL-6, l'IL-1 et le TNF. C'est une α2-sialoglycoprotéine composée d'une chaîne clivée en deux chaînes, la chaîne α N-terminale et la chaîne β C-terminale. L'haptoglobine a pour fonction de complexer l'hémoglobine circulante car l'hémoglobine libre, comme le fer libre, est très réactive et entraîne la formation de radicaux libres et la peroxydation des lipides. L'haptoglobine, contrairement à la transferrine ou l'hémopexine, n'est pas recyclée mais dégradée après endocytose.

Outre sa fonction de liaison à l'hémoglobine, l'haptoglobine est également capable d'agir en tant qu'agent bactériostatique, d'inhiber la synthèse de prostaglandines et l'angiogénèse [109]. Les souris déficientes en haptoglobine [110], présentent une accumulation de fer dans le rein (probablement liée au captage de l'hémoglobine libre par le récepteur mégaline-cubiline) avec l'âge. Lorsque les souris KO haptoglobine sont traitées par un agent hémolytique, la survie des souris est diminuée, et le stress oxydant augmenté par l'absence d'haptoglobine. Ainsi ces expériences montrent le rôle essentiel de l'haptoglobine pour complexer l'hémoglobine et éviter les dommages liés à cette hémoglobine libre.

Le récepteur de l'haptoglobine a récemment été cloné [111], il s'agit d'un récepteur de la famille SRCR (Scavengor Receptor Cystein Rich), appelé CD163. Le gène codant pour le récepteur de l'haptoglobine est exprimé uniquement par les monocytes et les macrophages tissulaires. Il ne semble pas être exprimé par les hépatocytes, posant la question du mode d'acquisition du complexe haptoglobine-hémoglobine par ces cellules. Le CD163 est induit, comme l'haptoglobine par l'IL-6 mais également par l'IL-10 et les glucocorticoïdes. Ce récepteur n'est pas capable de lier l'haptoglobine ou l'hémoglobine libre, ce qui explique qu'en absence d'haptoglobine, l'hémoglobine soit anormalement distribuée dans les tissus [112].

II.6.2. Hémopexine

L'hémopexine, comme l'haptoglobine, est une protéine inflammatoire de phase aiguë.
C'est une glycoprotéine protéine plasmatique de 60kDa synthétisée par le foie composée d'une seule chaîne polypeptidique de 439 acides aminés. Son affinité pour l'hème est très forte, la plus forte des protéines plasmatiques. Le complexe hémopexine-hème est reconnu par un récepteur spécifique produit principalement par les hépatocytes. Après endocytose et catabolisme de l'hème, l'hémopexine et son récepteur sont recyclés [113].

II.6.3. HCP1

HCP1 (Heme Carrier Protein 1) a été identifié très récemment l'équipe d'A. McKie par hybridation soustractive faite à partir d'ARN de duodénum et d'iléon de souris *hpx* (voir paragraphe sur la Tf) comme un récepteur de l'hème spécifique situé à la membrane apicale de l'entérocyte [3]. En effet, le gène *Hcp1* est exprimé dans les entérocytes de l'intestin grêle, mais il n'est pas exprimé dans l'iléon, ce qui a permis son identification. HCP1 qui est détectée à la membrane apicale des entérocytes, aurait 9 domaines transmembranaires. La protéine HCP1 est homologue aux transporteurs bactériens des tétracyclines métalliques à 12 domaines

transmembranaires. Cette homologie est probablement liée à la similarité de structure entre l'hème et la tétracycline. La surexpression d'*HCP1* augmente l'acquisition d'hème par les cellules de façon dépendante de la température et saturable. Ce transport d'hème est aboli par traitement des cellules avec des siRNA dirigés contre HCP1. Enfin, les taux d'ARNm *Hcp1* seraient augmentés chez des souris en hypoxie [3].

II.6.4. FLVCR

Le récepteur FLVCR (pour Feline Leukemia Virus subgroup C Receptor) est utilisé par un virus qui provoque une aplasie des GR chez les félins, avec absence de CFU-E et de progéniteurs érythroïdes. Cette protéine est présente à la surface des progéniteurs érythroïdes, mais l'expression de son gène est réprimée dans la phase terminale de l'érythropoïèse. Cette perméase a été identifiée très récemment comme permettant l'export de l'hème des progéniteurs érythroïdes [26]. Le traitement d'une lignée érythroïde (cellules K562) par des anticorps bloquants dirigés contre FLVCR a montré que la présence de FLVCR est essentielle à la différenciation de cette lignée [26]. Le rôle de FLVCR dans les progéniteurs érythroïdes n'est pas complètement connu, mais il pourrait agir pour prévenir l'accumulation toxique d'hème. La forte expression du gène codant pour cet exporteur de l'hème dans des lignées cellulaires intestinale (CaCo2) et hépatique (HepG2) laisse à supposer qu'il pourrait jouer un rôle dans ces types cellulaires [26].

II.7. L'hème oxygénase (HO) : enzyme de dégradation de l'hème

L'hème oxygénase est une enzyme membranaire qui permet de dégrader l'hème en monoxyde de carbone (CO), en fer (Fe^{2+}) et biliverdine. Il existe trois isoformes d'hème oxygénase. L'hème-oxygénase 2 (HO-2) est constitutivement active et présente de façon majoritaire dans tous les organes sauf dans la rate. Produite en grande quantité dans le cerveau, elle semble jouer un rôle important de protection des neurones contre le stress oxydant et le CO produit par la dégradation de l'hème sert de neurotransmetteur. Ainsi, une déficience en HO-2 chez la souris entraîne d'importantes anomalies du système nerveux central et périphérique [114]. L'hème-oxygénase 3 (HO-3) ne semble pas avoir d'activité catalytique. C'est donc l'hème-oxygénase 1 (HO-1) présente en grande quantité dans le macrophage qui participe à l'érythrophagocytose (voir plus haut) [115]. Elle est induite au cours de l'EP, par l'hème et également par le stress cellulaire. Des souris KO *HO-1* présentent ainsi une accumulation de fer dans le macrophage [29]. Yachie *et al.* rapportent qu'une déficience en HO-1 chez un garçon de 6 ans est associée à un retard de croissance et une anémie hémolytique sévères. Le rein et le foie de ce patient est surchargé en fer [116].

II.8. Mégaline-cubiline

La cubiline est une protéine de 460 kDa sans domaine transmembranaire capable de se lier à la vitamine B12 dans l'intestin, l'ApoA1, l'HDL et l'albumine dans le rein et le sac vitellin. Elle a également pour ligand la transferrine et l'hémoglobine dans le rein. L'affinité de la cubiline est la même pour l'apo- et l'holo-Tf. La cubiline interagit avec la mégaline qui peut, elle aussi, se lier à d'autres molécules. La mégaline, par son domaine transmembranaire, permet l'ancrage à la membrane du complexe mégaline-cubiline-ligand puis son internalisation.

Alors que la présence de la mégaline est détectée dans plusieurs cellules épithéliales, la cubiline est retrouvée dans un nombre plus restreint d'organes (intestin grêle, sac vitellin, cytotrophoblaste, tubule proximal du rein). Ce complexe serait responsable de la clairance de l'hémoglobine libre du sang vers le rein lors d'une hémolyse.

Le complexe mégaline-cubiline est retrouvé à la surface apicale du tubule proximal dans le rein. Des souris KO mégaline présentent une accumulation de la Tf liée à la cubiline à la surface apicale des tubules rénaux [117]. Une fois prise en charge par la mégaline-cubiline, la Tf n'est pas recyclée comme après liaison à R-Tf mais dégradée dans les lysosomes.

II.9. IRP (Iron Regulatory Protein) 1 et IRP2

Chez les mammifères, deux protéines IRP ont été identifiées. IRP1 aussi appelée aconitase cytosolique 1 (ACO1) possède un complexe fer-soufre (Fe-S). IRP2 (ou IREB2 pour IRE-Binding protein 2) est homologue à 79% à IRP1, mais ne possède pas d'activité aconitase ni de complexe Fe-S [118].

Ces protéines reconnaissent des éléments de régulation présents en 5' ou 3' UTR de l'ARNm de leurs gènes cibles (TfR1, DMT1, ferritines H et L, ferroportine, eALAS, aconitase mitochondriale). L'interaction des IRP avec un IRE en 5'UTR empêche la traduction de l'ARNm alors que l'interaction des IRP avec un IRE situé en 3' UTR stabilise l'ARNm. Quand le fer est abondant dans la cellule le complexe Fe-S d'IRP1 peut se former et IRP1 a alors une activité aconitase. Lorsque le fer vient à manquer le complexe est déstabilisé et la protéine acquiert une activité de liaison aux IRE. En présence de fer ou d'hème, IRP2 est dégradée par le protéasome (voir « Système IRP/IRE ») (Figure 13).

Outre le fer, des expériences in vitro ont montré que les IRP sont sensibles à l'hypoxie, au stress oxydant et à des stimuli inflammatoires suggérant un rôle plus large que celui de régulateurs du métabolisme du fer [118,119].

L'absence totale d'IRP chez la souris (souris *Irp1*-/- *Irp2*-/-) provoque une létalité embryonnaire montrant le rôle essentiel des IRP dans le développement embryonnaire [120]. Les souris *Irp2*-/- exprimant seulement le gène *Irp1* présentent une anémie microcytaire modérée et une distribution altérée du fer dans les organes, probablement due à une diminution des taux de RTf1 et une augmentation de la ferritine par perte de régulation posttranscriptionnelle dans les précurseurs érythroïdes [121,122]. Il a également été décrit dans un modèle *Irp2*-/- une atteinte cérébrale due à une accumulation de fer dans le cerveau chez ces souris [123], mais ce phénotype n'est pas reproduit dans un autre modèle d'invalidation du gène *Irp2* [124]. Les souris *Irp1*-/- n'ont pas de phénotype détectable laissant supposer qu'IRP2 est capable de compenser pour la fonction d'IRP1 en conditions physiologiques [125].

II.10. HFE

Le gène *HFE* est situé sur le chromosome 6 en position p22.2. Il code pour une protéine membranaire atypique de la famille des protéines du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I. Comme toutes les protéines du CMH I, HFE a besoin de se lier à la β2-microglobuline pour se replier correctement et pour se retrouver à la surface des cellules. Mais il semble, d'après sa structure tridimensionnelle, qu'elle soit incapable de présenter un peptide comme les autres molécules du CMH I [126]. La protéine HFE est également capable de se lier à RTf1 et interfère entre la liaison de RTf1 et Tf-Fe2 [127,128] (Figure 10), mais le rôle fonctionnel de cette interaction au niveau de la captation du fer reste très controversé [129].

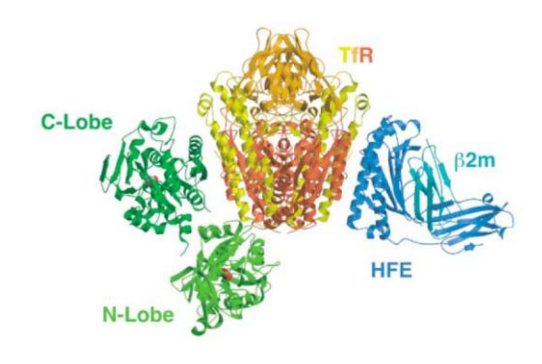


Figure 10. Diagramme en ruban représentant le complexe HFE-β2m-RTf1-Tf [129]
En vert est figurée la Tf et ses deux lobes N terminal et C terminal ; en jaune-rouge-orange, RTf1 ; en bleu HFE ; en bleu clair la β2-microglobuline. Les parties hydrophobes membranaires ne sont pas représentées.

L'ARNm du gène *HFE* est présent en grande quantité dans l'intestin grêle et dans le foie [130], il est faiblement détecté dans les tissus lymphoïdes [131]. La protéine est retrouvée dans les cryptes des villosités duodénales, colocalisant avec RTf1 [132]. Dans le foie, on pensait pendant un certain temps que la présence de la protéine HFE était restreinte aux cellules de Kupffer et aux cellules épithéliales biliaires [133,134] puis, probablement suite à la production de meilleurs anticorps, il est maintenant admis que HFE est également présente dans les hépatocytes [130]. Enfin, dans le placenta, HFE colocalise avec RTf1 à la membrane apicale des syncitiotrophoblastes, mais le rôle de HFE dans le placenta reste à déterminer [135].

Aujourd'hui, même si le rôle de la protéine HFE n'est pas encore complètement établi, on pourra retenir que l'activité de la protéine est complexe et dépendante du type cellulaire. Dans les cellules qui n'exportent pas le fer (HeLa, HEK293) la surexpression de *HFE* entraîne une diminution du fer intracellulaire par diminution de l'entrée du fer (compétition avec l'holoTf pour la fixation avec le RTf1) [136,128]. À l'inverse, dans les cellules qui exportent naturellement le fer via l'exporteur ferroportine (lignée HT29 de type duodénale [137], macrophages ou lignée THP-1 de type macrophagique [138,139]), la surexpression de *HFE* augmente le pool intracellulaire de fer en inhibant l'export du fer. Ce rôle de HFE serait indépendant de sa liaison avec RTf1.

Des mutations de ce gène, empêchant la liaison de HFE avec la β2-microglobuline et la présence de HFE à la surface cellulaire, sont à l'origine de l'hémochromatose héréditaire, maladie de surcharge martiale multiviscérale. Ce rôle dans l'hémochromatose héréditaire a été confirmé par la génération de souris KO *Hfe* et de souris KI (knock-in) portant la mutation C282Y impliquée dans 80% des cas d'hémochromatose héréditaire. Ces souris reproduisent en effet toutes les caractéristiques de la maladie humaine exceptées les complications hépatiques (fibrose, cirrhose, hépatocarcinome) [140]. Il est en effet connu que la souris est une espèce résistante à la carcinogenèse du foie [141].

III. Le récepteur de la transferrine et sa forme soluble

III.1. Les récepteurs de la transferrine : R-Tf1 et R-Tf2

III.1.1. Structure du R-Tf1

Comme pour la transferrine, le gène *TfR1* humain est situé sur le chromosome 3(3q26) ; il s'étend sur plus de 31 Kb et est constitué de 19 exons [142]. Le RTf est une glycoprotéine transmembranaire de structure homodimérique, de masse moléculaire égale à 190 kDa [143]. Chaque monomère contient 760 acides aminés répartis en trois domaines (Figure 11) :

Le domaine cytoplasmique comporte l'extrémité N-terminale de la molécule, il contient 61 acides aminés. La sérine en position 24 est un site de phosphorylation par la protéine kinase C. Une séquence peptidique particulière (tyrosine-thréonine-arginine-phénylalanine) dans cette région est considérée comme signal indispensable à l'endocytose [144]. L'acylation par l'acide palmitique en position 52 résulte d'une modification post-traductionnelle qui favorise l'endocytose [145] ; les récepteurs non acylés subissent une endocytose plus rapide.

Le domaine transmembranaire contient 28 acides aminés à prédominance hydrophobique. Il fonctionne durant la phase de synthèse comme signal de translocation à travers le réticulum endoplasmique.

Le domaine C-terminale extracellulaire contient 671 acides aminés. Les deux monomères sont unis par deux ponts disulfures en position 89 et 98. Il existe trois sites de N-glycosylation en position 251, 317 et 727 et un seul site de O-glycosylation sur un résidu thréonine en position 104. Chaque molécule de récepteur peut fixer deux molécules de transferrine, mais le site de liaison est actuellement inconnu.

Plusieurs sites de glycosylation sont présents sur cette protéine et semblent jouer un rôle dans la liaison à la transferrine, dans la localisation cellulaire et dans la protection contre le clivage. Chaque monomère de R-Tf peut se lier à une molécule de transferrine mais les acides aminés impliqués dans cette liaison n'ont pas encore été identifiés. La biosynthèse du R-Tf suit les voies métaboliques des autres glycoprotéines de surface. Trois modifications post-traductionnelles se produisent soient la glycosylation, l'acylation et la phosphorylation. La demi-vie du R-Tf varie de 14 heures à 3 jours selon le type cellulaire.

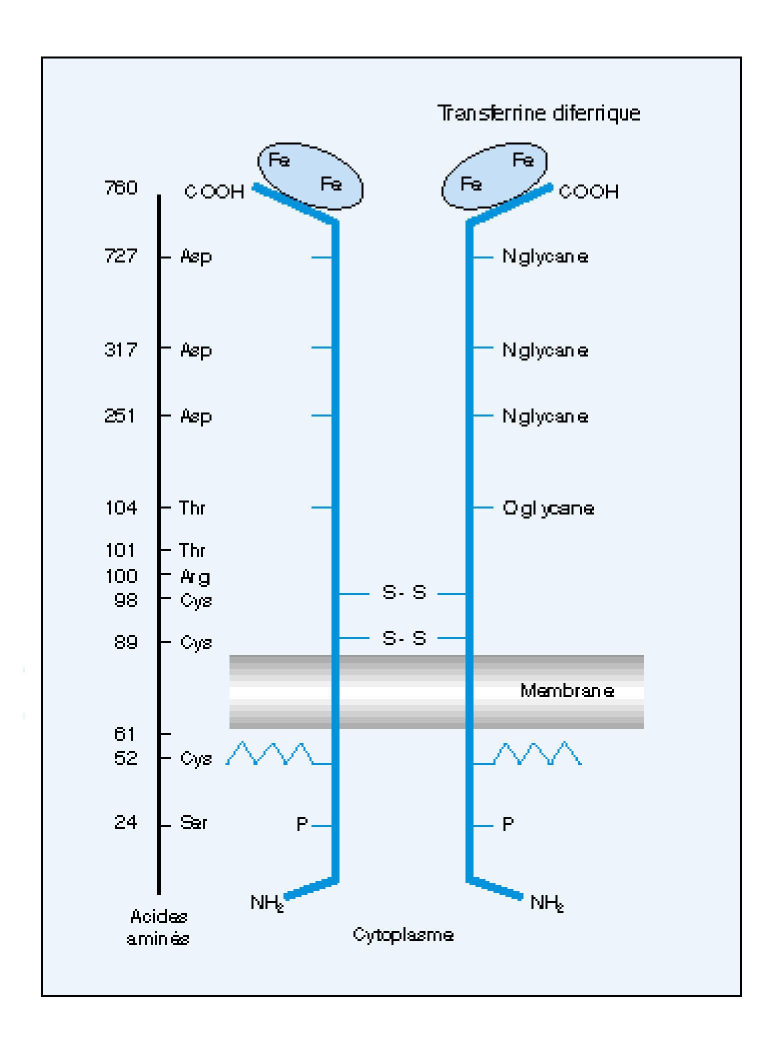


Figure 11 : Structure du récepteur de la transferrine [146]. L'extrémité N-terminale est dans le cytoplasme. Le domaine extracellulaire comporte deux ponts bisulfure unissant les deux monomères, trois sites de N-glycosylation et un site d'O-glycosylation. Le récepteur sérique circulant est une forme tronquée par protéolyse entre les acides aminés 100 et 101.

Le gène codant pour R-Tf1 est exprimée par tous les types cellulaires à l'exception des érythrocytes matures. Toutefois son expression est la plus élevée dans les précurseurs érythroïdes (cellules synthétisant l'hémoglobine), les hépatocytes, les monocytes, les cellules formant la barrière hématoencéphalique et les cellules normales en phase de division rapide ainsi que dans les cellules malignes.

Les précurseurs des érythrocytes contiennent plus des deux tiers des R-Tf de l'organisme [147]. Le récepteur est exprimé dès le stade BFU-E (Burst forming unit-E) qui est constitué des progéniteurs spécialisés les plus primitifs de la lignée érythrocytaire [147]. Son expression augmente au fur et à mesure de la maturation cellulaire pour atteindre un maximum au stade érythroblaste intermédiaire (800 000 R-Tf/cellule) pour ensuite diminuer à 100 000 R-Tf/cellule chez les réticulocytes circulants puis aller jusqu'à disparaître chez les érythrocytes matures [148].

III.1.2. Fonction du R-Tf

Le R-Tf membranaire est indispensable à l'internalisation du fer lié à la transferrine. Le modèle d'internalisation du fer lié à la transferrine par le R-Tf recycle le complexe Tf-R-Tf et s'appelle le "transferrin-to-cell cycle". Ce modèle débute par la liaison de la transferrine diferrique à son récepteur spécifique à la surface cellulaire (Figure 2). Les complexes Tf-R-Tf sont internalisés par endocytose suite à la formation de puits tapissés de clathrines qui s'invaginent pour former des endosomes. Les endosomes formés subissent une acidification progressive ATPase-dépendante. La libération du fer lié à la transferrine s'effectue à un pH d'environ 5,5. Le fer ainsi libéré est alors soit utilisé par la cellule, soit emmagasiné par la ferritine [149]. Au pH acide de l'endosome, l'apotransferrine a une forte affinité pour le récepteur. Les complexes Tf-R-Tf ne fusionnent pas avec les lysosomes et sont retournés à la surface cellulaire. Au pH physiologique à la surface cellulaire, l'affinité de l'apotransferrine pour le récepteur est perdue. Elle se sépare donc de son récepteur et retourne dans le plasma. Le transit du complexe Tf-R-Tf ne dure que 10 min [150]. On estime que le tiers des R-Tf se trouve à la surface des cellules, les deux tiers restants sont impliqués dans le phénomène d'endocytose [149].

L'affinité du R-Tf est maximale pour la transferrine diferrique (2 à 7 $x10^{-9}$ M) soit de 30 à 500 fois plus élevée que celle pour la transferrine monoferrique et l'apotransferrine, respectivement [151]. Il en résulte que l'apport en fer aux cellules s'effectue principalement par la transferrine diferrique dont la concentration circulante (30 - 40 µM saturé à 30% chez les individus normaux) est suffisante pour saturer tous les R-Tf. La régulation du R-Tf est cruciale pour optimiser la quantité de fer acquise par les cellules en réponse aux besoins métaboliques et pour prévenir l'accumulation excessive qui pourrait mener à la formation de radicaux libres toxiques.

Dans les cellules cryptales de l'intestin, le R-Tf se lie à la protéine HFE (Hemochromatosis gene product HFE). Cette liaison agit comme mécanisme de contrôle du fer internalisé puisqu'elle diminue l'affinité du récepteur pour la transferrine [152,126]. La mutation ponctuelle C282Y de l'HFE entraîne la production d'une protéine non fonctionnelle qui ne peut participer à ce mécanisme de régulation. Il en résulte une captation incontrôlée du fer et son accumulation excessive dans les tissus.

III.1.3. Régulation de l'expression

L'homéostasie intracellulaire du fer est assurée par une régulation post-transcriptionnelle des gènes codant pour le R-Tf et pour la ferritine, étroitement liée à la concentration intracellulaire en fer. La régulation de la synthèse des deux protéines s'effectue en sens inverse. Les ARNm de la ferritine et du R-Tf possèdent respectivement, dans leurs extrémités 5' et 3' non traduites, une séquence oligonucléotidique particulière de structure tige-boucle dénommée *iron responsive element* (IRE) (Figure 12 et 13) [153]. Les IRE ont une affinité élevée pour des protéines cytosoliques, les *iron regulatory proteins* (IRP1 et IRP2).

L'activité de liaison à l'ARNm des IRP est coordonnée avec la concentration en fer par la modulation de la conformation des protéines. Lorsque la concentration cellulaire est faible en fer, l'IRP1 se fixe sur l'IRE : cela bloque la traduction et la synthèse de ferritine et favorise l'expression du gène de R-Tf en protégeant l'ARNm du récepteur de la dégradation par les ribonucléases [154]. Il s'en suit une augmentation de la densité des R-Tf à la surface des progéniteurs érythropoïétiques. Inversement, si la cellule est riche en fer, l'IRP1 possède une forme plus compacte avec un centre fer-soufre (*cluster* 4Fe-4S), elle perd son affinité pour l'IRE, ce qui permet la traduction de l'ARNm de la ferritine et favorise l'entreposage du fer. Par ailleurs, la dégradation de l'ARNm du R-Tf est accélérée limitant la synthèse du R-Tf et par la même occasion l'acquisition du fer (Figure 13). Ce mécanisme permet aux cellules de coordonner l'acquisition et l'entreposage du fer selon sa disponibilité et leurs besoins martiaux.

Dans le cas des cellules érythroïdes, l'expression du R-Tf est plutôt régulée au niveau transcriptionnel par des facteurs de croissance ou de différentiation cellulaire et serait plus indépendante du contenu intracellulaire en fer [155,156]. Le contrôle transcriptionnel de l'expression du gène du R-Tf est aussi possible dans d'autres types cellulaires en stade de prolifération [157].

Par ailleurs, la surexpression de R-Tf par les cellules malignes pourrait être exploitée pour développer une thérapie sélective. En effet, les anticorps contre le R-Tf, qui inhibent la liaison de la transferrine, exercent un effet cytostatique sur les cellules malignes [147]. De plus, des conjugués entre une drogue (ex: daunorubicine) et la transferrine ou des conjugués entre une drogue et un anti-R-Tf ont également été synthétisés afin de permettre de cibler les cellules en état de prolifération. Ils ont démontré des effets cytotoxiques sur des cellules cancéreuses [147] mais cette toxicité n'était pas spécifique aux cellules malignes, d'autres cellules riches en R-Tf étaient également affectées.

III.1.4. Le R-Tf2

Le gène codant pour R-Tf2 (*TFR2*), cloné en 1999 par Kawabata *et al.* [158], est à l'origine de deux transcrits, une forme α de 2,9 kb et une forme β de 2,5kb. Il est probable que la forme β qui ne possède pas les exons 1, 2 et 3, représente une forme intracellulaire soluble du récepteur. La forme α est majoritairement exprimée dans le foie et également dans les précurseurs érythroïdes et les cellules duodénales (cryptes et villosités) [159], alors que la forme β est faiblement exprimée dans tous les tissus [158]. R-Tf2 est également exprimé par un grand nombre de lignées cellulaires dérivées de tumeurs solides de différents tissus [39].

Plusieurs équipes ont montré que la quantité de protéine R-Tf2 était augmentée in vitro par traitement de lignées cellulaires à l'holoTf [39,41] mais pas après traitement au fer non lié à la Tf [40]. De plus, in vivo, lors d'une surcharge en fer expérimentale (régime riche en fer) ou pathologique (souris KO *Hfe*, souris thalassémiques), les taux de R-Tf2 sont également augmentés [41]. Cette augmentation de quantité de protéine R-Tf2 n'est pas liée à une augmentation de l'ARNm [41] mais serait due à une augmentation de la demi-vie de la protéine [40]. Cette régulation de R-Tf2 par le fer est différente de celle de R-Tf1. En effet, l'ARNm R-Tf2, contrairement à celui de R-Tf1, ne possède pas de séquence IRE. D'autre part, alors que R-Tf1 est régulé négativement par le fer, la surcharge en fer augmente la quantité de R-Tf2.

Le R-Tf2 est homologue à R-Tf1 (45% d'identité et 66% de similarité dans le domaine extracellulaire) mais lie l'holoTf avec une affinité 25 fois plus faible. [158,42]. Enfin, R-Tf2 n'est pas capable de lier la protéine HFE.

L'implication de R-Tf2 dans l'hémochromatose héréditaire [160] suggère que R-Tf2 aurait un rôle de régulation de l'homéostasie du fer via la régulation de l'expression du gène hepcidine [161].

III.2. La forme soluble (circulante) Rs-Tf ou (sTfR)

Le récepteur soluble de la transferrine (Rs-Tf) a été isolé du sérum humain par chromatographie d'immunoaffinité avec un anticorps monoclonal [162]. Le Rs-Tf est une forme tronquée du récepteur membranaire qui a perdu ses domaines cytoplasmique et transmembranaire ainsi que les ponts disulfures qui retenaient ensemble les deux monomères. Le clivage s'effectue dans le domaine extracellulaire entre l'arginine (position 100) et la leucine (position 101) (Figure 11). Il s'agit donc d'une forme monomérique circulante de masse moléculaire d'environ 85 kDa ayant toujours la capacité de lier une molécule de transferrine. Dans le plasma, le Rs-Tf se trouve sous forme de complexe avec la transferrine mono ou diferrique ; le poids moléculaire de ce complexe est d'environ 320 kDa [162].

Chez les sujets normaux, moins de 1 % de récepteurs intacts, provenant probablement de la lyse cellulaire. La majorité est sous forme tronquée monomérique. Dans certaines pathologies, telles que la drépanocytose, l'anémie hémolytique auto-immune et le purpura thrombocytopénique, le pourcentage de récepteurs intacts peut notablement augmenter [162].

Dans le modèle d'endocytose "transferrin-to-cell cycle" décrit précédemment (figure 2), une fraction mineure du complexe transferrine-récepteur participe à une voie différente (secondaire) d'endocytose [150]. Dans cette voie, la membrane de la vésicule d'endocytose contenant le complexe transferrine-récepteur forme de multiples invaginations conduisant à une structure nommée endosome multivésiculaire. Chaque microvésicule portant à sa surface un R-apoTf s'appelle un exosome. La protéolyse est effectuée par une sérine protéase associée à la membrane et se produit à l'intérieur de l'endosome multivésiculaire entre les positions 100 et 101 du récepteur donc avant l'exocytose. Le Rs-Tf serait ensuite relâché par exocytose et pourrait lier la transferrine dans la circulation. Les facteurs cellulaires qui déterminent quelle voie d'endocytose utilise un complexe transferrine-récepteur restent à être déterminés. Tout ce qu'est confirmé c'est que cette perte du récepteur est un phénomène de maturation érythroïde.

La protéolyse du récepteur membranaire est fortement influencée par la présence d'une *O-glycosylation* en position 104 qui exerce un rôle protecteur contre le clivage enzymatique [163]. La taille et la charge de la chaîne glycanique conditionnent la susceptibilité du R-Tf à la protéolyse, particulièrement les résidus sialylés : si la chaîne est longue et chargée, le R-Tf est résistant. L'intégrité du domaine cytoplasmique est un facteur de protection contre la protéolyse. La production de récepteurs mutants avec perte des amino-acides cytoplasmiques s'accompagne d'un clivage en position 91 [164]. De plus, le type cellulaire et la concentration intracellulaire de protéase peuvent influencer la formation de Rs-Tf [164].

Chez l'humain, les précurseurs médullaires érythroïdes constituent la source principale des Rs-Tf [150]. On estime que la moelle osseuse exprime plus de (80 à 95%) de la totalité des récepteurs contenus dans l'organisme [165] : cela explique la bonne corrélation existant entre la concentration sérique des Rs-Tf et l'activité proliférative de la moelle. Par conséquent, des changements dans les taux de Rs-Tf ont été observés dans certaines conditions cliniques associées à une altération de l'érythropoïèse et/ou à une déficience en fer. D'autres tissus que les cellules érythroïdes, principalement le foie et le placenta, contribuent pour une faible part à la production des Rs-Tf [165].

III.3. Aspects analytiques : mesure du Rs-Tf

III.3.1. Méthodes de dosage

En ce qui concerne le dosage du Rs-Tf, il n'existe pas de normes quant à l'utilisation d'anticoagulant, la durée de conservation des échantillons, le moment propice de la journée pour effectuer le prélèvement et le délai maximal entre la collecte et la centrifugation de l'échantillon. Une comparaison des résultats obtenus entre le sérum et le plasma EDTA a démontré qu'il n'y avait pas de différence significative, qu'il s'agisse de sang veineux ou de sang capillaire [166]. Cependant une autre étude mentionne que la durée du contact entre le sang et l'EDTA avant la centrifugation influence à la hausse la concentration du Rs-Tf [146]. Actuellement, la plupart des trousses recommandent l'utilisation de spécimens frais de sérum ou de plasma EDTA ou hépariné. Cependant dans certaines trousses, l'utilisation du plasma EDTA n'est pas recommandée.

Plusieurs trousses basées sur des essais immunologiques sont disponibles pour déterminer la concentration sérique ou plasmatique de Rs-Tf [167]. Quatre trousses commerciales de type ELISA sont disponibles: Quantikine IVD sTfR (R&D Systems), Cytokine sTfR (Eurogenetics), IdeA IEMA (Orion Diagnostica) et une trousse de Ramco Laboratories. Ces méthodes nécessitent cependant un long temps d'analyse et leurs variations inter-essais sont plus élevées que celles des méthodes totalement automatisées.

Aujourd'hui, plusieurs méthodes automatisées sont disponibles. Le N Latex sTfR de Dade Behring est un essai néphélométrique avec applications sur les analyseurs BN 100 et BN proSpec. Le Nichols Advantage sTfR assay de Nichols Institute est un essai par chimiluminescence de type sandwich. Les trousses de réactifs Tinaquant sTfR de Roche Diagnostics et STfR IdeA IT de Orion Diagnostica sont des essais immunoturbidimétriques avec applications sur des analyseurs de type Hitachi, mais la trousse STfR IdeA IT peut aussi être utilisée sur le néphélémètre IMMAGE de la compagnie Beckman-Coulter.

L'automatisation a permis de réduire le temps d’analyse de quelques heures, avec les méthodes ELISA, à environ 10 minutes [167]. Les coefficients de variation inter-essais sont inférieurs à 10% pour toutes les techniques automatisées. Les méthodes varient entre elles par le type d'anticorps (polyclonal ou monoclonal), par la nature du standard (récepteur intact libre, récepteur complexé à la transferrine isolé du sérum ou Rs-Tf isolé de placenta), par le type de marquage et par le signal mesuré [146]. Malgré une bonne corrélation entre les méthodes, les résultats obtenus par les différentes trousses sont très différents entre eux conduisant à des valeurs de référence et des seuils pathologiques variables.

Le développement d’un standard international pour la mesure du Rs-Tf aiderait à la concordance des méthodes et à l’utilisation en clinique de ce test. Actuellement, à notre connaissance, aucun laboratoire clinique en Algérie n’offre ce dosage. D’après un laboratoire qui travaille en collaboration avec un laboratoire en France qui offre ce test. Le coût du test est relativement élevé entre 2500 et 3000 DA dépendant de la méthode. Le laboratoire Mayo aux Etats-Unis (Mayo Medical Laboratories) offre ce test à un coût exorbitant (145$ US). La faible connaissance de ce nouveau test, la grande variation des valeurs obtenues d'une trousse à l'autre et le fait qu'il existe le perls médullaire comme technique de référence pour confirmer une déficience en fer concomitante à une maladie chronique font que ce test est encore peu prescrit.

III.3.2. Variations biologiques

Chez les individus adultes normaux, la concentration du Rs-Tf suit une distribution normale (gaussienne) et n'est pas influencée par l'âge, mais influencée par le sexe et la ménopause [168]. Chez le vieillard, la concentration observée est plus faible [169]. La race est un facteur de variation puisque les noirs ont une concentration plus élevée d'environ 10% par rapport aux blancs. Une variation similaire est observée chez les sujets vivant en altitude [168]. La variabilité biologique intra-individuelle a été étudiée, soit sur une période d'un mois avec des prélèvements hebdomadaires [166], soit durant un an avec des prélèvements mensuels [170]. La variation intra-individuelle se situe entre 12% et 15%, ce qui est inférieure à celle de la ferritine, du fer sérique et du coefficient de saturation de la transferrine [166].

Chez le nouveau-né, la concentration de Rs-Tf est environ le double de celle observée chez l'adulte et reflète probablement l'activité des cellules érythrocytaires mais également la prolifération d'autres types cellulaires [171].

III.3.3. Applications cliniques

Il a été mentionné précédemment que la concentration sérique de Rs-Tf est proportionnelle à la concentration tissulaire de R-Tf. Ainsi la concentration de Rs-Tf circulants est principalement déterminée par celle des précurseurs érythroïdes dans la moelle osseuse puisque ces cellules contiennent 75% des R-Tf de l'organisme. En effet, la relation entre les récepteurs membranaires et circulants est illustrée par la mesure du "erythron transferrin uptake" (ETU: quantité de transferrine captée par le tissu par unité de temps).

Le Rs-Tf en est un de ferrocinétique qui est relié à la prolifération des cellules érythroïdes. Une bonne corrélation a été trouvée entre le taux de Rs-Tf et le ETU chez les individus sains et chez les patients présentant des désordres hématologiques. Par conséquent, le nombre de R-Tf membranaires est déterminé par le taux de prolifération des cellules érythroïdes sous l'action de facteurs de croissance comme l'érythropoïétine et les besoins intra-cellulaires en fer. La carence martiale s'accompagne d'une augmentation des Rs-Tf par mise en jeu du mécanisme posttranscriptionnel consécutif à la diminution du contenu intracellulaire en fer et à l'augmentation du nombre de R-Tf membranaire sur toutes les cellules de l'organisme à l'exception des érythrocytes matures qui n'expriment plus le R-Tf.

III.3.3.1. Évaluation de l'érythropoïèse

Par sa localisation privilégiée sur les cellules immatures érythroïdes de la moelle osseuse, le R-Tf joue un rôle vital dans l'érythropoïèse. L'étude de Kohgo *et al.* [172] a apporté la preuve qu'il existe une relation étroite entre la concentration du Rs-Tf et le niveau de l'érythropoïèse : concentration diminuée dans les anémies aplasiques, augmentée dans les anémies hémolytiques. La très bonne corrélation entre Rs-Tf et mesures de ferrocinétique [165] justifie la mesure des Rs-Tf pour une évaluation quantitative de l'érythropoïèse.

La concentration du Rs-Tf est donc augmentée dans les états d'hyper-érythropoïèse. Il a été démontré que la concentration sérique du Rs-Tf est fortement augmentée, de 3 à 10 fois, lors des maladies hémolytiques (anémie hémolytique auto-immune, drépanocytose, sphérocytose héréditaire et b-thalassémie) [173,174]. Dans les syndromes myéloprolifératifs, le taux de Rs-Tf est variable selon les pathologies [174]: il est normal dans la leucémie myéloïde chronique et augmenté dans la polyglobulie vraie et dans la myélofibrose mais à un niveau moindre que dans les maladies hémolytiques [174]. L'anémie mégalobastique par carence en vitamine B12 ou en acide folique s'accompagne d'une masse érythrocytaire accrue avec une érythropoïèse inefficace. Le tiers des patients carencés ont une augmentation du Rs-Tf et cela constitue un indice de sévérité de la maladie [175]. Les patients avec des tumeurs hématologiques ou des tumeurs solides ont généralement des niveaux circulants de Rs-Tf normaux malgré que l'expression du Rs-Tf soit augmentée dans les cellules tumorales [176].

À l'opposé, la concentration du Rs-Tf est diminuée dans les états d'hypo-érythropoïèse comme dans l'insuffisance rénale chronique, l'anémie non régénératrice ou suite à une transplantation de moelle osseuse. Dans ces pathologies, le niveau du Rs-Tf est environ de 50% à 60% celui des contrôles ce qui indique que les tissus non érythroïdes contribuent significativement à la production des Rs-Tf circulants. La correction de l'anémie des insuffisants rénaux se fait par un traitement à l'érythropoïétine (Epo) qui est une hormone normalement produite par le rein. Ce traitement donne des résultats variables d'un individu à l'autre [177]. En raison du coût élevé de l'Epo recombinante, il est important de s'assurer que le sujet est un bon répondeur. La concentration initiale de Rs-Tf et son pourcentage d'augmentation après une ou deux semaines de traitement permettent de classer les patients en répondeurs ou non-répondeurs au traitement avec une sensibilité de 92% [147]. Si la concentration du Rs-Tf est élevée et la ferritine basse, il faut d'abord instituer un traitement substitutif par le fer, avant de commencer la thérapie avec la rHu EPO (l'Epo recombinante).

III.3.3.2.Évaluation de la déficience en fer (anémie ferriprive (AF) pure)

La déficience en fer est la principale cause d'anémie dans les pays en voie de développement mais également dans les pays industrialisés. Le degré de déficience en fer nécessaire pour induire une augmentation du Rs-Tf a été établi en soumettant des personnes saines et volontaires à des saignées répétées [178]. Il a été observé que la ferritine chute rapidement durant la phase de diminution des réserves et pendant ce temps la concentration de Rs-Tf demeure stable. Lorsque la ferritine atteint des valeurs subnormales, la concentration de Rs-Tf augmente de façon consistante, progressive et inversement proportionnelle au déficit en fer. Cette augmentation reflète l'expression cellulaire augmentée du R-Tf, et dans les cas de déficience sévère, l'augmentation du R-Tf causée par l'érythropoïèse inefficace. L'augmentation du Rs-Tf se poursuit au cours des saignées alors que la ferritine reste constante et effondrée [179]. Cette augmentation signe la carence tissulaire en fer fonctionnel et c'est le stade de l'érythropoïèse carencée en fer. Elle intervient plus précocement que les modifications du volume globulaire moyen, de l'indice de distribution des érythrocytes et de la protoporphyrine érythrocytaire [169]. La carence en fer évolue donc selon trois étapes successives: premièrement une déplétion des réserves en fer (diminution de la ferritine), deuxièmement une carence tissulaire en fer (augmentation du Rs-Tf) et finalement l'anémie (diminution de l'hémoglobine).

Chez les patients ayant une AF, plusieurs études ont démontré une augmentation du Rs-Tf de l'ordre de 3 à 5 fois selon la sévérité de la déficience. Alors que dans les cas d'excès en fer, comme dans l'hémochromatose, les taux sériques de Rs-Tf sont diminués ou normaux. Si l'on traite des personnes carencées avec des suppléments de fer, la concentration du Rs-Tf diminue au cours de 8 semaines de traitement malgré la normalisation de la ferritine après 4 semaines. Le Rs-Tf semble être un indicateur sensible de la carence en fer même après la reconstitution des réserves. La mesure du Rs-Tf est particulièrement intéressante chez les sujets ayant des réserves physiologiques faibles en fer pour lesquels l'intérêt du dosage de la ferritine est limité. C'est le cas des jeunes enfants, des adolescents, des athlètes et des femmes enceintes. Ainsi durant la grossesse, l'anémie est difficile d'interprétation parce que l'augmentation du volume sanguin cause une hémodilution et que les réserves de fer sont mobilisées pour le fœtus (hypoferritinémie). Mais si la carence en fer est véritable, le taux du Rs-Tf sérique sera augmenté.

III.3.3.3.Évaluation de l’Anémie des maladies chroniques pure (AMC)

Le dosage du Rs-TF est particulièrement intéressant dans le diagnostic de la carence en fer des anémies des maladies chroniques (inflammation, infection, cancer). Les anémies des maladies chroniques sont causées par la maladie sous-jacente qui produit des cytokines qui font croire à une déficience en fer, principalement par une redistribution des sites de réserve du fer vers le foie et les monocytes ainsi qu’une augmentation de la ferritine circulante. Typiquement, le bilan de ces patients est caractérisé par une diminution de la concentration plasmatique du fer (Hyposidérémie) en présence d’un niveau normal ou augmenté des réserves en fer. Ainsi, ce type d’anémie ne répondra pas à une supplémentation en fer. Le diagnostic d’une déficience en fer concomitante à une maladie chronique est difficile car les marqueurs habituels d’exploration martiale sont inopérants. En effet, la ferritine et la transferrine sont des protéines de phase aiguë: la ferritine augmente et la transferrine diminue lors des maladies chroniques.

La coloration au bleu de Prusse sur un aspirat de moelle osseuse est présentement la technique de référence pour confirmer une déficience véritable en fer lors d'une maladie chronique. Cet examen est invasif et coûteux. Le taux de Rs-Tf sérique n’est pas influencé par l’inflammation ou l’infection [180,181] et demeure normal ou est légèrement diminué à cause de l’effet de certaines cytokines sur l’érythropoïèse dans ces pathologies (en absence d’une carence martiale associée).

Dans une étude récente [182] réalisée sur 129 patients anémiques dont le statut martial a été apprécié par le Perls médullaire : 64 présentaient une AMC, 48 d’une AF et 17 d’une AMC accompagnée d'une déficience en fer. Les résultats de la ferritine et du Rs-Tf ont été confrontés dans les trois groupes. Le Rs-Tf était normale et la ferritine élevée chez les patients avec une AMC pure (1,8 mg/L) mais significativement élevée chez les patients ayant une AF (6,2 mg/L) et chez les patients ayant une anémie mixte (5,1 mg/L) [176]. Toutefois l'augmentation du Rs-Tf était significative chez seulement 13/17 patients ayant une anémie mixte. La performance diagnostique du test était améliorée par le calcul du rapport Rs-Tf / Log ferritine puisque la ferritine, normale ou légèrement élevée, avec un Rs-Tf augmenté même légèrement dans les anémies des maladies chroniques, indique probablement une déficience en fer associée. L'intérêt de ce rapport a été également rapporté pour le diagnostic d'un état carentiel au cours des maladies rhumatismales [183].

Une autre étude, qui a comparé le potentiel diagnostique de la ferritine et du Rs-Tf pour la déficience en fer dans différentes populations, conclut que la ferritine est encore la mesure de choix en routine pour évaluer la déficience en fer [184]. La sensibilité et la spécificité de la ferritine à 30 µg/L était de 92% et 98% respectivement comparativement à 92% et 84% pour une augmentation du Rs-Tf. De plus, la ferritine est le premier paramètre à diminuer lors d'une carence en fer. Néanmoins le Rs-Tf peut être utile, comme nous l'avons mentionné précédemment, en combinaison avec les autres tests de laboratoire, pour l'évaluation des carences fonctionnelles en fer et pour le diagnostic de la déficience en fer associée aux anémies des maladies chroniques. Le Rs-Tf ne remplace pas les paramètres habituels pour évaluer la déficience en fer mais ajoute une information supplémentaire permettant de mesurer la carence fonctionnelle en fer avant la diminution significative de l'hémoglobine.

IV. Régulation du métabolisme du fer

Deux systèmes de régulation du fer coexistent dans l'organisme :

Un système qui permet à l'intérieur même d'une cellule d'adapter l'entrée, le stockage et la sortie du fer selon les quantités présentes dans la cellule, le système IRP/IRE ;

Un système de régulation systémique qui permet aux différents organes consommateurs et/ou de stockage du fer, de dialoguer pour maintenir l'homéostasie. La nature de ce système de régulation a été réévaluée de nombreuses fois en fonction des nouvelles découvertes, de l'identification des gènes du métabolisme du fer et de leurs propriétés.

IV.1. Système IRP/IRE

Au niveau de la cellule, un système permet de réguler de façon coordonnée l'expression post-transcriptionnelle de gènes en fonction du contenu en fer cellulaire. Cette régulation repose sur l'interaction de deux IRP (Iron Regulatory Protein) avec des motifs situés dans les régions 5' ou 3' non traduites (5'- ou 3'-UTR) des ARNm codant pour des protéines de transport (RTf1, DMT1, ferroportine), de métabolisme (aconitase mitochondriale, 5-aminolevulinate synthase) ou de stockage (ferritine) du fer. Ces motifs sont appelés IRE pour Iron Responsive Elements [118,119]. Les IRE sont constituées d'une tige stable d'environ 10 nucléotides interrompue par une base C non appariée située à cinq nucléotides de la boucle. La boucle est formée de la séquence conservée CAGUGN (Figure 12).

Figure 12. Exemples de tiges-boucles IRE
a) IRE de la ferritine. b) IRE de R-Tf1. c) IRE de l'ALA synthase érythroïde. d) IRE de l'aconitase mitochondriale [119].

Lorsque les IRE sont situées en 5'-UTR, leur liaison avec les IRP inhibe la traduction du messager. À l'inverse, la liaison des IRP avec un 3'-UTR-IRE stabilise l'ARNm. Chez les mammifères, deux protéines IRP ont été identifiées. IRP1 aussi appelée aconitase cytosolique 1 (ACO1) possède un complexe fer-soufre (Fe-S). Quand le fer est abondant dans la cellule le complexe Fe-S peut se former et IRP1 a alors une activité aconitase [185]. Lorsque le fer vient à manquer, le complexe Fe-S est déstabilisé et la protéine acquiert alors une activité de liaison aux IRE. IRP2 (ou IREB2 pour IRE-Binding protein 2) est homologue à 79% à IRP1, mais ne possède pas d'activité aconitase ni de complexe Fe-S. En présence de fer ou d'hème, IRP2 est dégradée par le protéasome [186] (Figure 13).

Ainsi la cellule prévient l'accumulation du fer soluble toxique grâce aux IRP, senseurs du fer, en augmentant le stockage du fer insoluble dans la ferritine (IRE en 5') et en diminuant l'entrée du fer dans la cellule médiée par R-Tf1 (IRE en 3'). À l'inverse, quand la cellule manque de fer, la ferritine est diminuée et, avec elle, les stocks de fer libérés et le captage du fer est augmenté.

Outre le fer, des expériences in vitro ont montré que les IRP sont sensibles à l'hypoxie [187] et au stress oxydant [188] suggérant un rôle plus large que celui de régulateurs du métabolisme du fer (Figure 13).

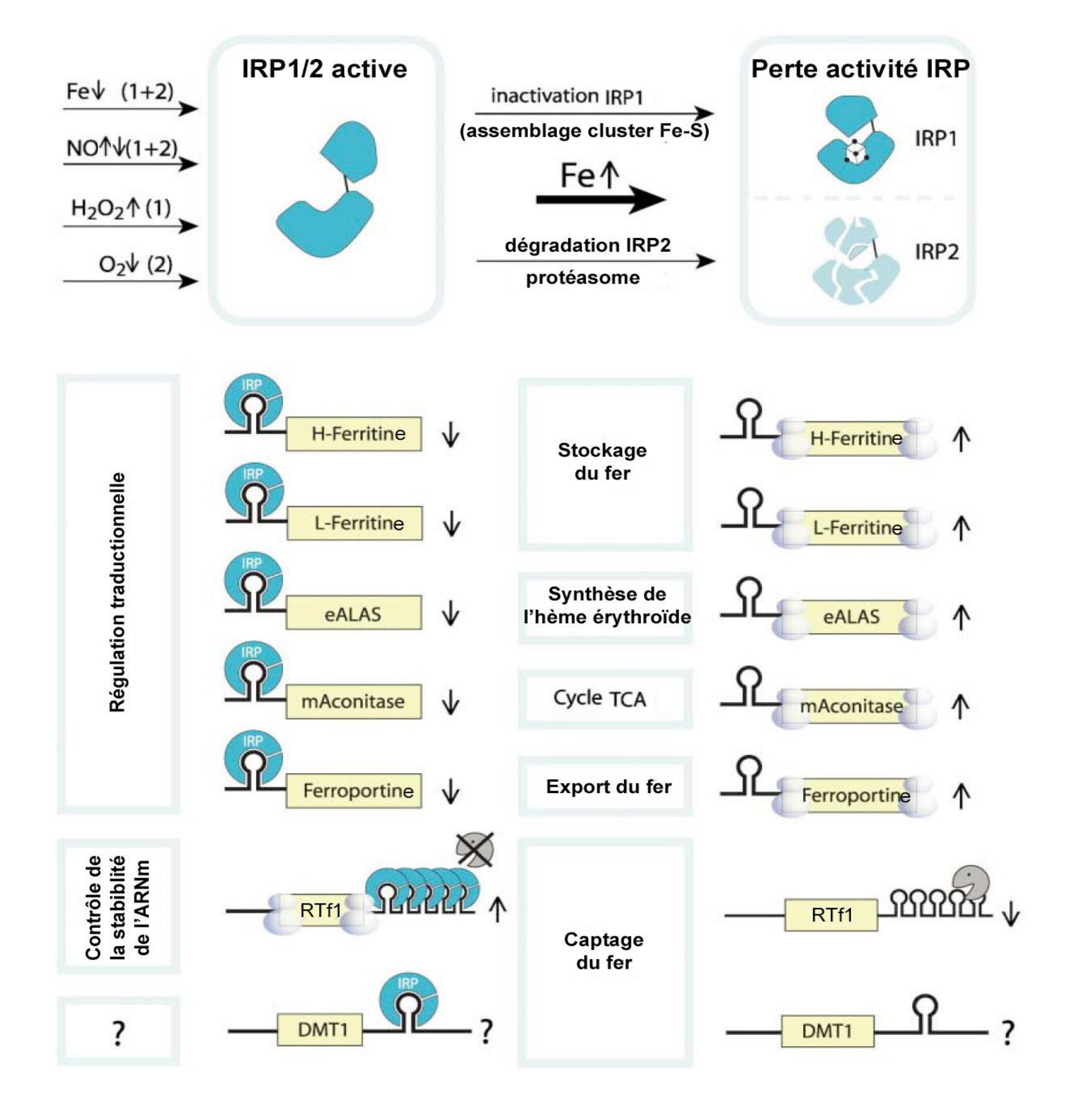


Figure 13. Régulation de l'homéostasie du fer intra-cellulaire par Système IRP/IRE localisés sur l'ARNm de: la H et L-ferritine; l'eALAS: erythroid 5-aminolevulinate synthase; mAconitase: aconitase mitochondriale. TCA: acides tricarboxyliques et RTf1 [119].

Le rôle des IRP a largement été étudié in vitro mais ce n'est que très récemment que l'implication des IRP in vivo est étudiée via la génération de souris KO *Irp1* et/ou *Irp2*. Les premiers résultats montrent que si les IRP sont essentiels au développement de l'organisme (l'absence totale d'Irp1 et Irp2 conduit à une létalité embryonnaire [120]), chaque Irp est capable de compenser, en partie, l'absence de l'autre Irp. En effet, les souris KO *Irp1* ne présentent pas d'anomalies évidentes [125] et les souris KO *Irp2* présentent seulement une anémie microcytaire associée à une distribution anormale du fer entre les tissus [121,122]. Il a également été décrit la présence d'une surcharge en fer cérébrale associée à une neurodégénérescence importante dans les souris KO *Irp2* [123], mais celle-ci n'est pas retrouvée dans un autre modèle souris KO *Irp2* (B. Galy *et al.*, résultats non publiés).

IV.2. Régulation systémique : modèle de la crypte

Il existe deux signaux de régulation importants pour l'absorption intestinale du fer, le régulateur indiquant les besoins en fer pour l'érythropoïèse (« le régulateur érythroïde») et celui indiquant l'état des réserves en fer (« le régulateur des réserves») [189].

C'est la présence conjointe de HFE et RTf1 au niveau des cellules de la crypte de l'intestin [132] qui a permis l'élaboration, il y a plusieurs années, d'un modèle de régulation de l'absorption intestinale de fer dit « modèle de la crypte» qui repose sur une programmation des cellules de la crypte en fonction des signaux régulateurs (érythroïdes et réserves) [190] (Figure 14). C'est en migrant le long de l'axe crypto-villositaire que les cellules de la crypte se différencient et acquièrent leur propriété d'absorption. Les entérocytes matures, en fonction de la quantité de fer captée par les cellules de la crypte via RTf1, sont programmés à produire plus ou moins de protéines responsables de l'absorption de fer. En résulte une absorption du fer adaptée aux besoins. HFE, dans ce modèle, aurait un rôle de senseur du fer capable, via sa fixation à RTf1, de moduler la captation du fer dans les cellules de la crypte. Lorsque *HFE* est muté, la protéine n'est plus adressée à la membrane et la captation de l'holotransferrine au niveau de la crypte est diminuée [191]. Les cellules se retrouvent alors en situation de privation artificielle en fer (malgré les réserves abondantes de l'organisme), entraînant une augmentation des acteurs de l'absorption intestinale du fer et donc l'hyperabsorption de fer qui caractérise cette maladie.

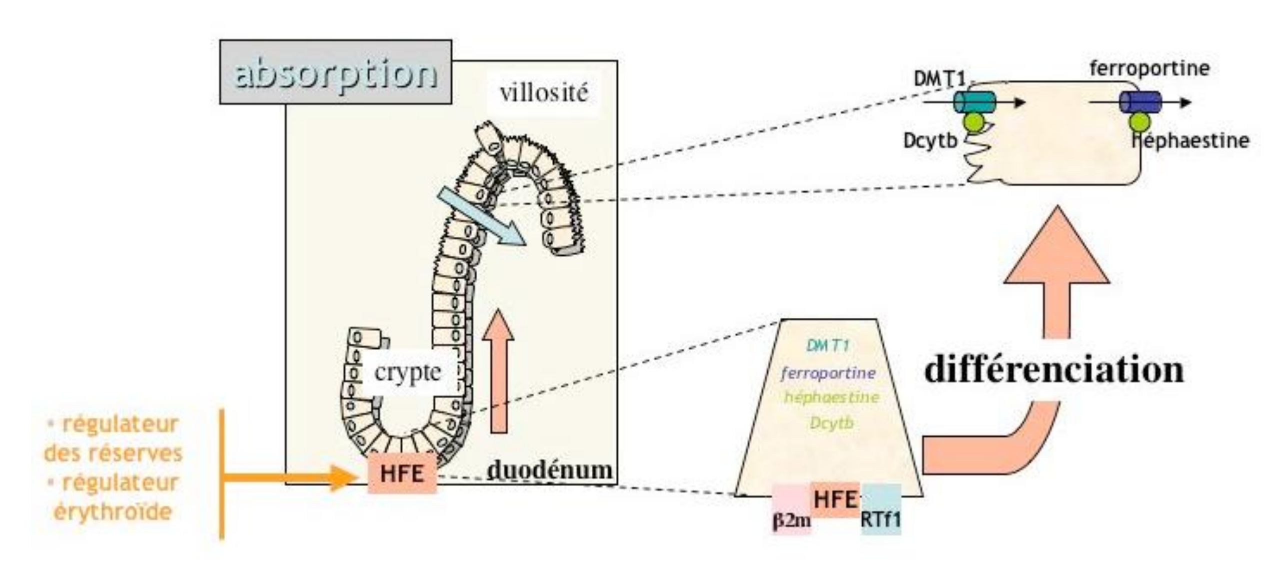


Figure 14. Modèle de la crypte La protéine HFE produite par les cellules de la crypte sert de senseur aux deux signaux régulateurs, le régulateur des réserves et le régulateur érythroïde. Les cellules de la crypte se différencient alors en entérocytes programmés à absorber plus ou moins de fer en fonction des besoins en régulant les taux de Dcytb, DMT1, ferroportine et héphaestine [5].

Ce modèle, bien que séduisant, s'est vite trouvé confronté aux premières données expérimentales de la littérature étudiant le rôle de HFE dans des cellules en culture et montrant que *HFE* surexprimé diminuait en fait l'entrée de fer (par compétition avec l'holotransferrine pour la fixation à RTf1) [129,138], et que, par conséquent, *HFE* muté entraînait une surcharge en fer de la cellule (et non un état de déficit, comme dans le modèle de la crypte). De plus, plusieurs auteurs ont montré que les entérocytes de patients hémochromatosiques (ou de souris *Hfe*-/-) ne présentaient pas les caractéristiques de cellules carencées en fer [192]. Enfin, notons que le modèle de la crypte n'envisage qu'une régulation à long terme de l'absorption intestinale de fer (compte tenu qu'il faut plusieurs jours à un entérocyte de la crypte pour devenir mature) et que dans certaines situations physiopathologiques, la régulation de l'absorption se met en place très rapidement [193].

Les macrophages (rate, moelle, foie) jouent également un rôle important dans la régulation de l'homéostasie du fer par leur fonction de relargage du fer lié à l'hème. Suite à l'observation de la présence de macrophages déficients en fer chez les patients hémochromatosiques, et compte tenu de la présence de la protéine HFE dans ces cellules [133,130], certains auteurs ont émis l'hypothèse que, l'absence de HFE à la membrane de ces cellules perturberait la captation de fer RTf1 dépendante, provoquant le déficit en fer de ces cellules. Là encore, une autre hypothèse peut être avancée faisant intervenir comme nous le verrons l'hepcidine.

Patients et Méthodes

I. Patients et méthodes

I.1. Patients

I.1.1. Effectifs et critères de sélection

Un effectif de 60 de sujets sains adultes, 32 hommes (âge moyen 44.78 ± 15.08 ans), 28 femmes, (âge moyen 46.50 ± 12.67 ans) a constitué le groupe témoin (Groupe 1), sélectionné en fonction de plusieurs critères : un bon état de santé apparent, absence d'antécédents pathologiques particuliers, un bilan hématologique, hépatique, rénal et inflammatoire normal.

Une fiche de renseignements cliniques a été remplie pour deux groupes de malades anémiques adultes hospitalisés au niveau du CHU de Sétif (voir annexe 1) ; selon l'OMS, l'anémie a pour définition un taux d'hémoglobine (Hb < 130 g /L chez l'homme et Hb < 120 g /L chez la femme). Selon l'étiologie de l'anémie chez ces malades, on a sélectionné (Tableau 2):

Un groupe de 50 patients, 27 hommes (âge moyen 42.92 ± 11.48 ans), 23 femmes, (âge moyen, 48.43 ± 12.05 ans), hospitalisé au niveau du service d'hématologie qui représente le groupe de sujets souffrant d'anémie purement ferriprive d'origine carentielle sans aucune maladie associée (AF), (Groupe 2) ayant des taux de la C-réactive protéine (CRP<10 mg/L).

Un autre groupe de 82 patients, 44 hommes (âge moyen 51.36 ± 12.12 ans), 38 femmes, (âge moyen, 51.68 ± 10.31 ans) hospitalisé au niveau du service de médecine interne qui présente le troisième groupe de sujets anémiques souffrant de maladies inflammatoires chroniques (AMC), (Groupe 3). L'installation d'une réaction inflammatoire chronique est définie comme un taux de C-réactive protéine supérieur à 10 mg/L (CRP > 10 mg/l) selon (Roche diagnostic).

Tableau 2: La composition de la population étudiée et sa distribution selon l'âge et le sexe

	Groupe 1 (témoin) n=60	Groupe 2 (AF) n=50	Groupe 3 (AMC) n=82
Hommes	32 (24 - 72 ans)	27 (26 - 66 ans)	44 (24 - 73 ans)
Femmes	28 (26 - 70 ans)	23 (28 - 71 ans)	38 (24 - 72 ans)
Age moyen ± SD (H)	44.78 ± 15.08	42.92 ± 11.48	51.36 ± 12.12
Age moyen ± SD (F)	46.50 ± 12.67	48.43 ± 12.05	51.68 ± 10.31

Valeurs d'âge exprimées en moyennes ± Ecart-type (SD) et valeurs extrêmes entre parenthèses

Au cours de notre collecte des échantillons sanguins qui a duré 12 mois, une enquête étiologique a été effectuée pour chaque patient, basée sur un interrogatoire profond incluant toutes les informations nécessaires à notre étude, réalisé avec le patient lui-même et par la consultation de son dossier médical (voire annexe 1).

A la base de cet interrogatoire et pour garantir l'homogénéité intra-sérielle des groupes étudiés, tous les patients qui ne correspondaient pas aux critères d'inclusion des anémies recherchées ont été exclus de notre population d'étude:

- Les malades souffrant d'anémie d'origine hémolytique (valeurs BLB libre élevé),
- Les malades souffrant d'insuffisance rénale (créatinine > 12 mg/L chez la femme et > 14 mg/L chez l'homme) ou d'un déficit en vitamine B12 ou d'acide folique … ;
- ceux recevant une supplémentation médicamenteuse en fer;
- Les malades transfusés récemment (< 120 jours).
- la population féminine de chaque groupe sur été choisie à la base d'un critère d'inclusion qui était la ménopause (plus que 75% des femmes sont en activité génitale) pour donner une crédibilité à notre étude.

I.1.2. Prélèvement et préparation des échantillons

Les trois groupes ont été prélevés à jeun entre 8h et 10h du matin, le sang veineux est récupéré sur deux types d'anticoagulants selon les exigences des fiches techniques des examens biochimiques et hématologiques à réaliser (voir annexe1):

Un tube à EDTA comme anticoagulant contient en moyenne 4ml du sang total, pour l'hémogramme (FNS complète) et un tube à Héparinate de lithium contient en moyenne 3,8 ml du sang total pour le dosage des autres paramètres (bilan martial, CRP et le Rs-Tf).

Les plasmas héparinés ont été séparés immédiatement du culot cellulaire par centrifugation (3000 t/min pendant 5 minutes) et recueillis soigneusement dans des aliquotes. Les sérums hémolysés ont été exclus du dosage et les patients ont été prélevés un autre jour.

Chaque individu a bénéficié d'un hémogramme (Formule Numération Sanguine complète), d'un bilan martial (complet) plus le Rs-Tf, et d'un bilan inflammatoire (CRP). Tous ces examens ont été effectués immédiatement sur des plasmas et sérums frais (Une heure au maximum après le prélèvement), les dosages ont été réalisés au niveau du laboratoire polyvalent Mère et Enfant CHU de sétif.

Pour augmenter les performances de notre étude, tous les examens biologiques ont été réalisés en triplicata (chaque test est réalisé en trois exemplaires) et les valeurs qu'on a utilisées dans les statistiques sont des moyennes de ces triplicatas (moyenne de trois répétions du même test)

I.2. Méthodes

I.2.1. Méthodes de dosage des paramètres hématologiques

L'hémogramme (la numération formule sanguine) a été réalisée par un analyseur d'hématologie multiparamètre, (Medonic, CA620) à 20 paramètres. Son principe de fonctionnement selon le guide d'utilisateur (User's manual) est :

I.2.1.1. La numération des globules rouges (GR)

Les valeurs normales (4,4 à 6 10^6 GR/mm^3 pour l'homme, 3,8 à 5,2 10^6 GR/mm^3 pour la femme), leurs énumération s'effectue automatiquement en deux étapes :

- Un volume de 25 µl du sang total aspiré est soumis à une série de dilutions 1:40 000 avec des articles en verre de classe A avec un agent de dilution qui est une solution isotonique pour obtenir la suspension finale à énumérer.

La numération s'effectue dans une chambre de comptage par impédance électronique :

- Les globules rouges en suspension, chargés positivement sont énumérés lors de leurs migrations à travers un micro-orifice équipé d'une part et d'autre de deux électrodes sous l'action d'un courant électrique appliqué entre les électrodes, cette migration génère un potentiel électrique enregistré sous forme d'une pulsation.

L'amplitude de cette pulsation est directement proportionnelle au volume cellulaire. Le nombre de pulsation correspond au nombre de cellules détecté. Sur un dispositif électronique les résultats sont multipliés par le facteur de dilution pour obtenir les résultats finaux.

I.2.1.2. Dosage de l'Hémoglobine (Hb)

L'hémoglobine (valeurs normales : 13,0 à 17,8 g/dl pour l'homme, 12,1 à 16,4 g/dl pour la femme) a été déterminée à partir d'une adaptation de la réaction de Drabkin :

- Un volume de 25 µl du sang total aspiré est soumis à une série de dilution 1:400 avec des articles en verre de classe A avec un agent hémolytique (solution hypotonique) qui éclate les hématies et libère leurs contenus en hémoglobine pour obtenir à la fin une suspension de globules blancs et l'hémoglobine.
- La même suspension est utilisée pour la détermination des globules blancs et le dosage de l'hémoglobine.
- La concentration d'hémoglobine est déterminée par la conversion l'hémoglobine en hémiglobine-cyanure (HiCN) et mesure de l'absorbance à 535 nm, conformément aux recommandations NCCLS H15-A2 et ICSH. La concentration d'hémoglobine est calculée à l'aide d'un coefficient d'absorption qui a été mémorisé lors de la calibration de l'analyseur.

I.2.1.3. Détermination du volume globulaire moyen (VGM)

Les valeurs normales du VGM sont du 80 à 100 fl pour l'homme et la femme. A partir de la même solution et au même temps lors du comptage de globules rouges, les amplitudes des pulsations enregistrées sont proportionnelles aux volumes cellulaires, le VGM est calculé à partir du rapport entre la somme des aires des pulsations et le nombre des pulsations enregistrés.

I.2.1.4. Hématocrite (HCT)

Les valeurs normales de l'HCT sont du 40 à 52% chez l'homme et du 37 à 47% chez la femme. L'hématocrite est défini comme étant le volume total de la masse des globules rouges, il est calculé à partir de la formule suivante : HCT en (%) = (VGM X Nombre de GR)/100

I.2.2. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques du bilan martial et inflammatoire

Tous les paramètres du bilan martial, du bilan inflammatoire et le Rs-Tf ont été mesurés par des méthodes de dosage immunoturbidimétriques automatisées sur l'analyseur Roche/Hitachi 902 (Roche Diagnostics Systems) à l'exception du fer sérique (ci-dessous). Les instructions relatives à l'analyseur indiquées dans la notice de chaque test et les instructions spécifiques de l'analyseur indiquées dans le manuel d'utilisateur ont été strictement respectées pour garantir le bon fonctionnement du test :

I.2.2.1. Dosage du fer sérique

Le fer sérique (valeurs usuelles : 10,6 à 28,3 µmol/L pour l'homme, 6,6 à 26,0 µmol/L pour la femme) a été mesuré par colorimétrie à la FerroZine (Roche Diagnostic Systems), (voir annexe 2):

- Dans le premier temps un volume de 20 µl de l'échantillon (plasma) est ajouté à 250 µl de réactif R1 (Acide citrique : 200 mmol/L ; thiourée : 115 mmol/L ; détergent) dans la cuvette réactionnelle, le mélange est incubé pendant 5 min à 37°C.

A un pH acide (citrate pH < 2,0), le fer est détaché de la transferrine. Les échantillons lipémiques sont clarifiés par le détergent.

$$\text{Transferrine-Fe-complexe} \xrightarrow{\text{citrate (pH < 2,0)}} \text{apotransferrine} + Fe^{3+}$$

- Puis l'addition de 50 µl du réactif R2 (Ascorbate de sodium: 150 mmol/L ; FerroZine: 6 mmol/L ; conservateur) et l'incubation du mélange pendant 5 min à 37°C conduit au déclenchement de la réaction : L'ascorbate réduit les ions Fe^{3+} en ions Fe^{2+} qui forment ensuite un complexe coloré avec la FerroZine. L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à la concentration en fer et est mesurée par photométrie à 570 nm contre une courbe d'étalonnage saisie et mémorisée lors de la calibration de l'appareil.

$$Fe^{3+} \xrightarrow{\text{acide ascorbique}} Fe^{2+}$$

$$\text{FerroZine} + Fe^{2+} \longrightarrow \text{complexe coloré}$$

I.2.2.2. Dosage de la transferrine

La transferrinémie (valeurs usuelles : 2,0 à 3,6 g/L chez l'homme et la femme) a été dosée par immunoturbidimétrie (Roche Diagnostic Systems), (voir annexe 3):

- Une prise d'essai de 3 µl de l'échantillon (plasma frais recueilli sur héparinate de lithium) est ajoutée à 270 µl de réactif R1 (Tampon phosphate : 55 mmol/L, pH 7,2 ; NaCl : 25 mmol/L ; polyéthylèneglycol : 5% ; conservateur) dans la cuvette réactionnelle, le mélange est incubé pendant 5 min à 37°C, voir l'exemple de la ferritine (figure 15).

- Puis l'addition de 100 µl du réactif R2 (Anticorps (de lapin) anti-transferrine humaine : dépend du titre de l'antisérum ; chlorure de sodium : 100 mmol/L ; conservateur) et l'incubation du mélange pendant 5 min à 37°C conduit au déclenchement de la réaction: Les anticorps anti-transferrine fixés sur des particules de latex réagissent avec la transferrine de l'échantillon avec formation de complexes antigènes-anticorps. L'absorbance de l'agglutination qui en résulte est mesurée par turbidimétrie à 505 nm contre une courbe d'étalonnage saisie et mémorisée lors de la calibration de l'appareil.

I.2.2.3. Calcul de la capacité totale de fixation de la transferrine

La possibilité maximale de transport du fer par la transferrine représente la capacité totale de saturation en fer de la transferrine (valeurs usuelles : 50 à 90 µmol de Fe/l). Elle est déterminée par calcul à partir du dosage de la transferrinémie selon la formule suivante :

$$CTF\ (\mu mol\ Fe/l) = (10^6 / 80\ 000) \times transferrine\ (g/l) \times 2$$

80 000 = masse moléculaire de la transferrine en g/mol

10^6 = facteur de conversion des micromoles en moles

2 = nombre d'atomes de fer par molécule de transferrine

Soit: $(2x10^6)/80000 = 25$ Donc :

$$CTF\ (\mu mol\ Fe/l) = transferrine\ (g/l) \times 25$$

Ce paramètre est connu sous le nom de la TIBC (*total iron binding capacity*), qui apprécie la capacité maximale de fixation du fer par la transferrine. Les valeurs usuelles de ce paramètre sont celles de la Tf multipliées par 25 soit (50 – 90 µ mol/l).

La différence entre la capacité totale et la sidérémie définit la capacité latente de fixation ou de saturation en fer de la transferrine UIBC (unbound iron binding capacity) La CST varie de façon identique à la transferrine.

I.2.2.4. Calcul du coefficient de saturation en fer de la transferrine

Le coefficient de saturation de la transferrine (CST) (valeurs usuelles : 20% à 40% homme et femme) a été déterminé par le calcul du rapport entre le taux du fer sérique (FS en µmol/l) et la Capacité Totale de Fixation de la transferrine (CTF en µmol de Fe/l):

$$CST\ (\%) = Fs\ (\mu mol/l) \times 100 / CTF\ (\mu mol\ de\ Fe/l)$$

I.2.2.5. Dosage de la ferritine

La ferritinémie (valeurs usuelles : 30 à 400 µg/l chez l'homme et 15 à 150 µg/l chez la femme) a été évaluée par immunoturbidimétrie (Roche Diagnostics Systems), (voir annexe 4):

- Une prise d'essai de 8 µl de l'échantillon (plasma frais recueilli sur héparinate de lithium) est ajouté à 125 µl de réactif R1 (Tampon TRIS (Tris (hydroxyméthyl) aminométhane): 0,18 mol/l, pH 8,2 ; NaCl : 100 mmol/l ; conservateur), le mélange est incubé pendant 5 min à 37°C.

- Puis l'addition de 125 µl du réactif R2 (particules de latex mobilisées par des anticorps polyclonaux de type IgG (de lapin) anti-ferritine humaine) et l'incubation du mélange pendant 5 min à 37°C conduit au déclenchement de la réaction: Les anticorps anti-ferritine fixés sur des particules de latex réagissent avec la ferritine de l'échantillon avec formation de complexes antigènes-anticorps (figure 15). L'absorbance de l'agglutination qui en résulte est mesurée par turbidimétrie à 700 nm contre une courbe d'étalonnage saisie et mémorisée lors de la calibration de l'appareil.

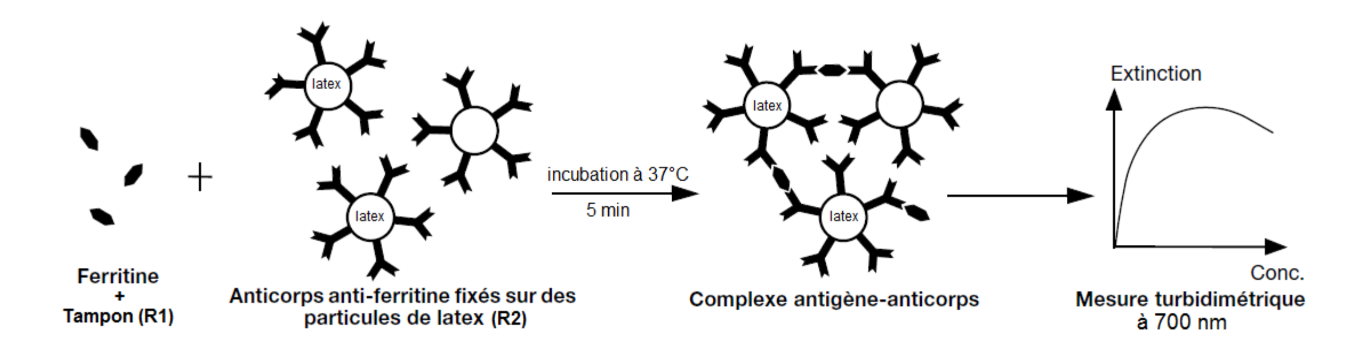


Figure 15 : illustration du principe immunoturbidimétique pour le dosage de la ferritine à titre d'exemple.

I.2.2.6. Dosage du récepteur soluble de la transferrine

Le Rs-Tf, (valeurs usuelles : 2,2 à 5,0 mg/l chez l'homme et 1,9 à 4,4 mg/l chez la femme) a été évalué par immunoturbidimétrie (Roche Diagnostic Systems), (voir annexe 5) :

- Une prise d'essai de 3 µl de l'échantillon (plasma frais recueilli sur héparinate de lithium) est ajoutée à 150 µl de réactif R1 (Tampon TES/HCl: 20 mmol/l, pH 7,7 ; NaCl : 500 mmol/l ; conservateur) dans la cuvette réactionnelle, le mélange est incubé pendant 5 min à 37°C, voir l'exemple de la ferritine (figure 15).

- Puis l'addition de 150 µl du réactif R2 (Particules de latex chargées d'anticorps monoclonaux de type IgG (de souris) anti-Rs-TF humain ; Tampon TRIS/HCl : 20 mmol/L, pH 8,0 ; conservateur) et l'incubation du mélange pendant 5 min à 37°C conduit au déclenchement de la réaction: Les anticorps anti-Rs-TF fixés sur des particules de latex réagissent avec l'antigène de l'échantillon avec formation de complexes antigènes-anticorps. L'absorbance de l'agglutination qui en résulte est mesurée par turbidimétrie à 570 nm contre une courbe d'étalonnage saisie et mémorisée lors de la calibration de l'appareil.

a) TES = acide [[(tris (hydroxyméthyl) méthyl] amino]-2 éthanesulfonique

b) TRIS : tris (hydroxyméthyl) aminométhane

I.2.2.7. Calcul de l'index Rs-Tf-F

L'index Rs-Tf-F représente le rapport entre la concentration du récepteur soluble de la transferrine en mg/L et le logarithme décimale de la concentration de la ferritine en µg/L :

$$\text{Rs-Tf -F} = \text{Rs-Tf (mg/L)} / \text{Log [Ferritine (µg/L)]}$$

L'intervalle des valeurs normales de cet index est de (Rs-Tf-F < 2 chez les deux sexes) où la valeur maximale Rs-Tf-F_{max} = 2 représente le rapport entre les limites supérieures des intervalles normaux de ces deux paramètres :

$$\text{Rs-Tf-F}_{max} = \text{Rs-Tf}_{max} / \text{Log (Ferritine}_{max}) \rightarrow 5 / \text{Log}(400) = 1,92 \approx 2 \text{ chez l'homme.}$$

$$\text{Rs-Tf-F}_{max} = \text{Rs-Tf}_{max} / \text{Log (Ferritine}_{max}) \rightarrow 4,4 / \text{Log}(150) = 2,02 \approx 2 \text{ chez la femme.}$$

Où :

$\text{Rs-Tf}_{max} = 5$ et $\text{Rs-Tf}_{max} = 4,4$: représente la limite supérieure de l'intervalle des valeurs normales du Rs-Tf.

$\text{Ferritine}_{max} = 400$ et $\text{Ferritine}_{max} = 150$: représente la limite supérieure de l'intervalle des valeurs normales de la ferritine.

I.2.2.8. Dosage de la protéine C-réactive

La CRP a été évaluée par immunoturbidimétrie. La valeur normale qui a permis d'exclure un processus inflammatoire chronique est de : CRP < 10 mg/l chez l'homme et la femme, (Roche Diagnostic Systems), (voir annexe 6):

- Une prise d'essai de 3 µl de l'échantillon (plasma frais recueilli sur héparinate de lithium) est ajoutée à 250 µl de réactif R1 (Tampon TRIS: 50 mmol/, pH 7,4 ; conservateur ; stabilisateur) dans la cuvette réactionnelle, le mélange est incubé pendant 5 min à 37°C, voir l'exemple de la ferritine (figure 15).

- Puis l'addition de 120 µl du réactif R2 (Particules de latex chargées d'anticorps monoclonaux de type IgG (de souris) anti-CRP humain : 0,1% ; Tampon glycine: 50 mmol/L, pH 8,0 ; conservateur ; stabilisateur) et l'incubation du mélange pendant 5 min à 37°C conduit au déclenchement de la réaction: Les anticorps anti-CRP fixés sur les microparticules de latex réagissent avec la CRP de l'échantillon avec formation de complexes antigènes-anticorps. L'absorbance de l'agglutination qui en résulte est mesurée par turbidimétrie à 546 nm. Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe d'étalonnage saisie et mémorisée lors de la calibration de l'appareil. Celle-ci est générée par une calibration en 6 points.

II. Calculs et statistiques

Avant de commencer les calculs des moyennes et les coefficients de corrélation, Les dosages ont été réalisés en triplicata et les valeurs à tenir en compte de chaque paramètre sont des moyennes d'un triplicata.

Les valeurs de la ferritinémie sont normalisées par transformations logarithmiques (calculs du Logarithme décimal des concentrations de la ferritine)

Les analyses statistiques des données (moyennes et Ecart-types, coefficients de corrélations, les tests de la normalité et la comparaison de moyennes) ont été effectuées à l'aide du logiciel (Excel for Windows software 2007). Selon les étapes suivantes :

- élimination des valeurs pertinentes après la création d'une Box-plot
- vérification de la normalité (la conformité à la loi normale de chaque paramètre) utilisant le test de Khi-deux (χ^2)
- Calcul de moyennes et les Ecart-types des paramètres de chaque groupe résumés sous formes de tableaux (voir annexes)
- Calcul des coefficients de corrélation (r) de ces paramètres avec le marqueur principal dans notre étude (Rs-Tf) et création de la matrice des valeurs (r)
- Comparaison des moyennes utilisant le test de STUDENT t-test:
  - Entre les deux sexes au sein de chaque groupe pour vérifier l'effet du sexe sur le statut martial afin de prendre décision si on a étudié les deux sexes séparément ou bien en les fusionnant.
  - Entre les groupes de sujets anémiques et le groupe témoin au sein du même sexe.

Une P-value *($P< 0.05$)* est considérée comme statistiquement significative, toutes les valeurs P sont calculées par la fonction t-test utilisant la distribution bilatérale.

Les figures (histogrammes) ont été réalisées par le logiciel (Excel for Windows software 2007).

III. Résultats et discussion

Les résultats du bilan martial (l'hémogramme, fer sérique, ferritinémie, la transferrinémie et ses indices, le Rs-Tf et son index) des trois groupes sont récapitulés dans le (tableau 3). Du fait qu'il y ait effet du sexe sur les paramètres essentiels de notre étude (l'hémoglobine, la ferritinémie et le Rs-Tf sont hétérogènes entre les deux sexes *(P<0,001)*, les résultats obtenus ont été analysés séparément entre les males et femelles Figure (16-25). Les analyses des résultats ont été réalisées en deux étapes :

- ○ **Dans un premier temps on a discuté les points suivants :**
  - **Le degré de sensibilité du Rs-Tf au statut martial ;**
  - **L'apport informatif de chaque paramètre au diagnostic spécifique des anémies étudiées ;**
  - **La concordance entre les paramètres au sein de chaque groupe à l'anémie étudiée.**

Tableau 3 : les valeurs des paramètres du bilan martial et la CRP chez le groupe témoin et les deux groupes de sujets anémiques (les résultats sont exprimés séparément entre les deux sexes).

	Groupe 1 (témoin) n=60		Groupe 2 (AF) n=50		Groupe 3 (AMC) n=82	
	Hommes n= 32	Femmes n=28	Hommes n=27	Femmes n=23	Hommes n=44	Femmes n=38
Age (ans)	44.78 ± 15.08	46.50 ± 12.67	42.92 ± 11.48	48.43 ± 12.05	51.36 ± 12.12	51.68 ± 10.31
Hémoglobine (g/l)	145.05 ± 5.91	135.13 ± 6.26	100.05 ± 6.24	90.04 ± 6.82	99.46 ± 5.38	90.78 ± 5.71
Hématocrite (%)	45.21 ± 2.25	41.21 ± 2.49	31.10 ± 2.34	27.11 ± 2 .73	31.08 ± 2.19	27.48 ± 2.25
VGM (fl)	92.25 ± 4.15	86.38 ± 3.15	76.05 ± 4.29	70.33 ± 3.45	75.98 ± 4.01	70.65 ± 2.82
Fer sérique (µmol/l)	20.46 ± 4.64	17 .02 ± 5.67	7.34 ± 4.78	4.52 ± 3.65	7.05 ± 4.35	4.71± 3.32
Ferritine (µg/l)	208.16 ± 46.40	78.06 ± 17.39	28.04 ± 6.40	21.87 ± 5.34	369.25 ± 71.33	294 .21 ± 57.96
Transferrine (mg/l)	2.75 ± 0.44	2.76 ± 0.51	3.76 ± 0.46	3.78 ± 0.55	3.79 ± 0.42	3.70 ± 0.47
CST (%)	31.42 ± 12.78	26.90 ± 12.98	8.54 ± 6.48	5.41 ± 4.69	8.05 ± 5.83	5.59 ± 4.28
CTF (µmol Fe/l)	68.81 ± 11.19	69.13 ± 12.71	94.18 ± 11.59	94.57 ± 13.76	94.85 ± 10.60	92.58 ± 11.86
Rs-Tf (mg/l)	3.52 ± 0.87	2.86 ± 0.83	8.53 ± 0.92	7.87 ± 0.89	5.34 ± 2.30	4.73 ± 2.36
Rs-Tf /Log(Ferritine)	1.54 ± 0.43	1.55 ± 0.54	6.00 ± 1.02	6.05 ± 1.27	2.10 ± 0.93	1.95 ± 1.02
CRP (mg/l)	<10	<10	<10	<10	>>10	>>10

Les résultats sont exprimés en (moyenne ± SD), La CRP (C-Réactive protein) est comparée à la valeur seuil qui indique l'installation d'un processus inflammatoire (10 mg/L) ; groupe 1(témoin ou référence) : sujets sains ; groupe 2 (AF) : sujets anémiques d'origine ferriprive ; groupe 3 (AMC) : sujets anémiques d'origine des maladies chroniques. VGM : volume globulaire moyen ; CST : Coefficient de Saturation de la Tf ; CTF : Capacité Totale de Fixation de la Tf ; Rs-Tf : Récepteur soluble de la transferrine.

III.1. Etude de la corrélation du Rs-Tf avec les autres paramètres

Pour estimer le degré de sensibilité du taux du Rs-Tf au statut martial, la corrélation entre les paramètres du bilan martial et le Rs-Tf a été évaluée et récapitulée dans le (tableau 4) :

Tableau 4 : les valeurs des coefficients de corrélations (r) des principaux paramètres du bilan martial avec le Rs-Tf chez le groupe témoin et les deux groupes de sujets anémiques (les résultats sont exprimés séparément entre les deux sexes).

	Groupe 1 (témoin) n=60		Groupe 2 (AF) n=50		Groupe 3 (AMC) n=82	
	Hommes n= 32	Femmes n=28	Hommes n=27	Femmes n=23	Hommes n=44	Femmes n=38
Age (ans)	- 0.05	- 0.22	- 0.14	- 0.02	- 0.02	- 0.04
Hémoglobine (g/l)	- 0.98	- 0.97	- 0.98	- 0.97	- 0.71	- 0.70
Hématocrite (%)	- 0.93	- 0.95	- 0.94	- 0.96	- 0.67	- 0.70
VGM (fl)	- 0.96	- 0.91	- 0.97	- 0.92	- 0.68	- 0.67
Fer sérique (µmol/l)	- 0.98	- 0.98	- 0.98	- 0.97	- 0.72	- 0.68
Ferritine (µg/l)	- 0.98	- 0.94	- 0.98	- 0.95	- 0.59	- 0.65
Transferrine (mg/l)	0.98	0.98	0.98	0.99	0.70	0.70
CST (%)	- 0.97	- 0.98	- 0.99	- 0.96	- 0.73	- 0.67
CTF (µmol Fe/l)	0.98	0.98	0.98	0.99	- 0.70	- 0.70
Rs-Tf (mg/l)	1	1	1	1	1	1
Rs-Tf /Log(Ferritine)	0.99	0.99	0.99	0.96	- 0.99	- 0.99

Les valeurs négatives du (r) indiquent une corrélation inverse ; les valeurs positives du (r) indiquent une variation dans le même sens ; groupe 1(témoin ou référence) : sujets sains ; groupe 2 (AF) : sujets anémiques d'origine ferriprive ; groupe 3 (AMC) : sujets anémiques d'origine des maladies chroniques. VGM : volume globulaire moyen ; CST : Coefficient de Saturation de la Tf ; CTF : Capacité Totale de Fixation de la Tf ; Rs-Tf : Récepteur soluble de la transferrine.

On remarque une excellente corrélation entre les principaux paramètres du bilan martial avec le Rs-Tf chez les deux sexes (tableau 4), pour le groupe témoin et le groupe de sujets à anémie ferriprive (AF) les valeurs absolues (r) sont supérieures à 0,94 avec une valeur *(P<0,001)*, ce qui indique la sensibilité élevée de ce paramètre au statut martial, dans le groupe de sujet à anémie des maladies chroniques (AMC), la corrélation est relativement moindre pour la totalité des paramètres *(P=0,12)*; ce qu'on peut expliquer par l'hétérogénéité de ce groupe (variabilité inter-individuelle du taux de Rs-Tf très élevée).

On remarque aussi l'absence de corrélation entre le Rs-Tf et l'âge, ce qui exclut l'âge comme un facteur influençant les taux sérique de Rs-Tf dans cette population (adulte).

III.2. Etude des apports informatifs de chaque paramètre dans le diagnostic biologique spécifique des anémies étudiées

III.2.1. l'apport du taux d'hémoglobine



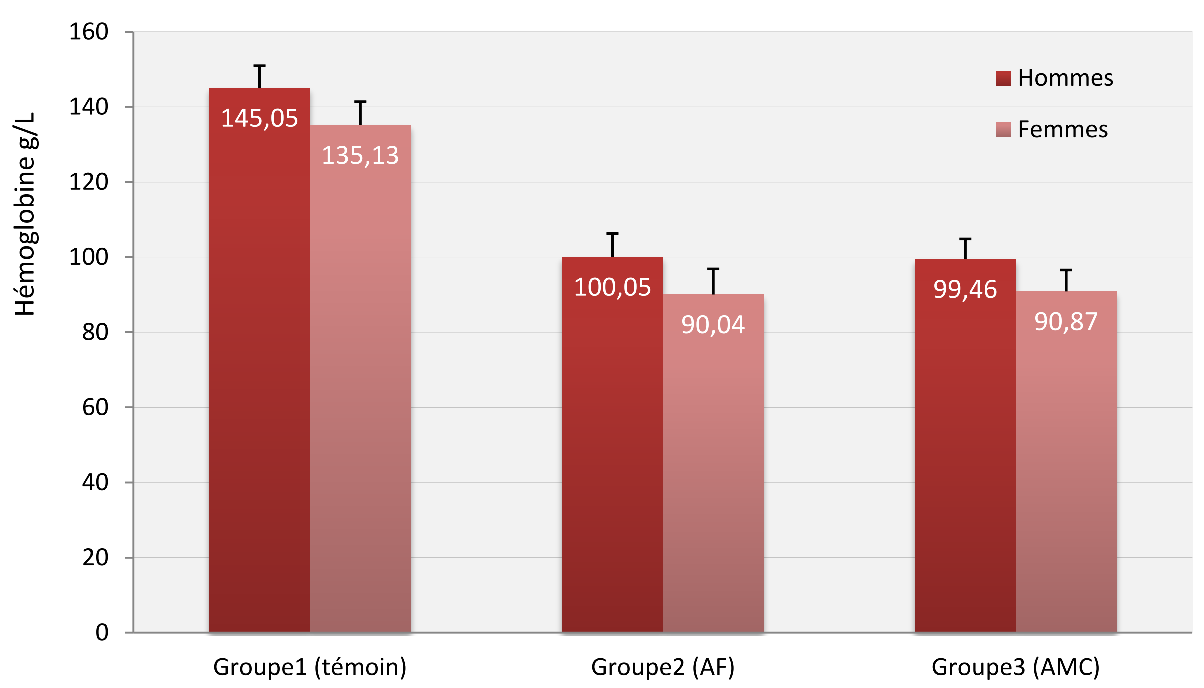


Figure 16 : Les taux d'hémoglobine (Hb) en g/L dans le groupe1 (témoin) (n=60 : 32H/28F) et les deux groupes de sujets anémiques : Groupe 2 à anémie ferriprive (AF) (n=50 : 27H/23F) ; Groupe 3 à anémie des maladies chroniques (AMC) (n=82 : 44H/38F). Résultats exprimés en moyennes. Les hommes sont représentés par la colonne à gauche (en rouge foncé) ; Les femmes sont représentées par la colonne à droite (en rouge clair). Les concentrations moyennes sont représentées au-dessus de chaque colonne.

A partir de l'hémoglobinémie (figure:16), on observe une différence significative du taux d'hémoglobine *(p<0,001)* entre le groupe témoin (H: 145.05 ± 5.91 g/L ; F: 135.13 ± 6.26 g/L) et les deux groupes de sujets anémiques: (H: 100.05 ± 6.24 g/L ; F: 90.04 ± 6.82 g/L) chez les sujets à AF et (H: 99.46 ± 5.38 g/L ; F: 90.78 ± 5.71 g/L) chez les sujets à AMC : ce qui confirme l'installation d'une anémie chez les patients de ces deux groupes mais sans aucune information sur leur physiopathologie. Cette différence est négligeable *(P>0,05)* entre les deux groupes anémiques eux-mêmes, ce qui prouve l'absence de la spécificité du dosage d'hémoglobine dans le diagnostic différentiel des anémies. Donc l'hémoglobinémie ne peut pas nous aider à différencier les origines des anémies. Son intérêt se limite à la confirmation d'une érythropoïèse inefficace.

III.2.2. l'apport du volume globulaire moyen

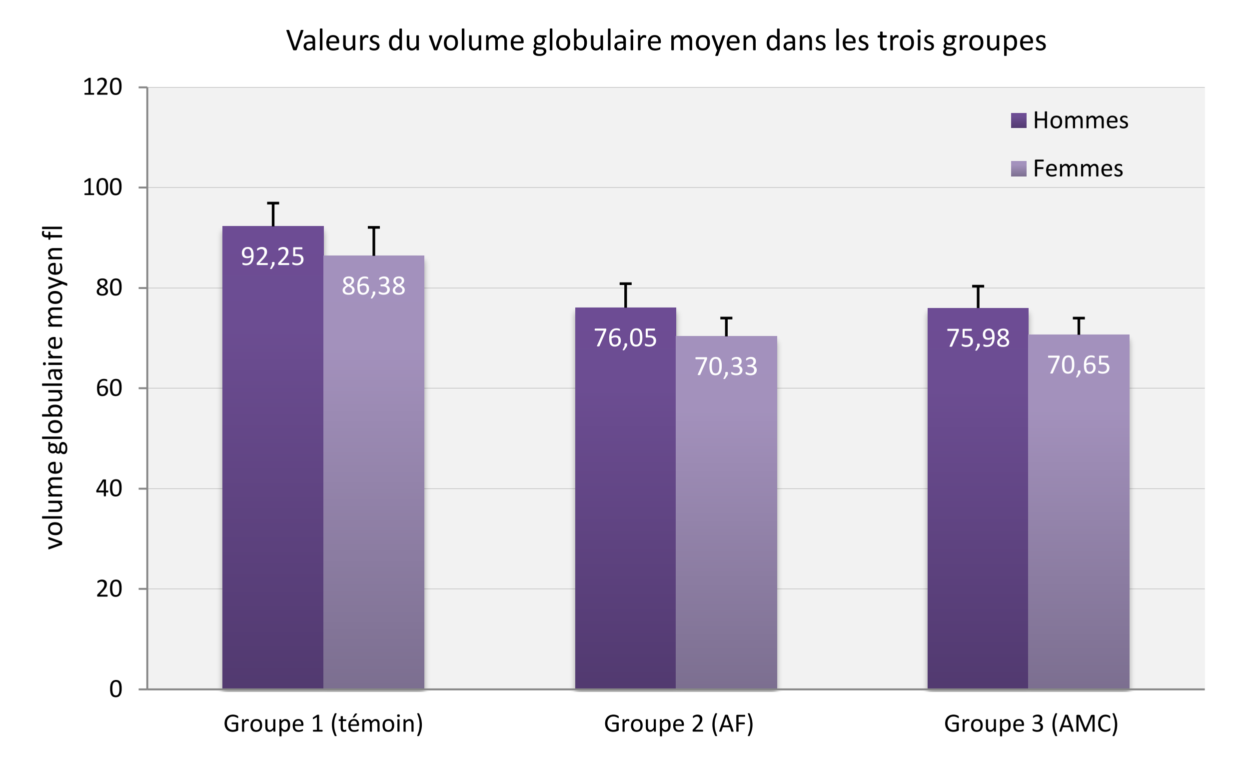


Figure 17 : Les valeurs du volume globulaire moyen (VGM) en fl dans le groupe1 (témoin) (n=60 : 32H/28F) et les deux groupes de sujets anémiques : Groupe 2 à anémie ferriprive (AF) (n=50 : 27H/23F) ; Groupe 3 à anémie des maladies chroniques (AMC) (n=82 : 44H/38F). Résultats exprimés en moyennes. Les hommes sont représentés par la colonne à gauche (en rouge foncé) ; Les femmes sont représentées par la colonne à droite (en rouge clair). Les concentrations moyennes sont représentées au-dessus de chaque colonne.

La différence du volume globulaire moyen entre le groupe témoin (H: 92.25 ± 4.15 fl ; F: 86.38 ± 3.15 fl) et les deux groupes de sujets anémiques: (H: 76.05 ± 4.29 fl ; F: 70.33 ± 3.45 fl) chez les sujets à AF et (H: 75.98 ± 4.01 fl ; F: 70.65 ± 2.82 fl) chez les sujets à AMC, peut seulement indiquer que l'anémie est microcytaire sans aucune autre information (figure 17). Un VGM < 80 fl est l'un des signes d'une anémie ferriprive et/ou inflammatoire [194].

III.2.3. l'apport du fer sérique

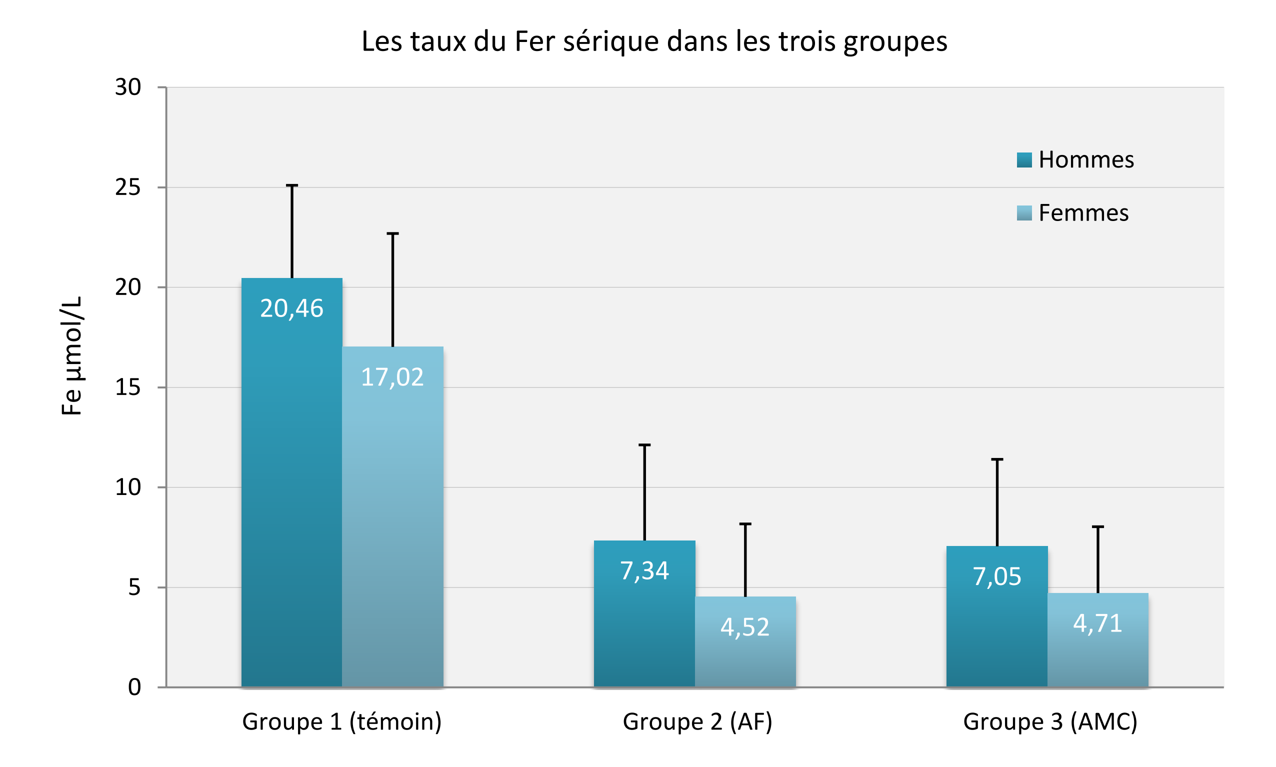


Figure 18 : Les concentrations du fer sérique (Fe) en µmol/L dans le groupe1 (témoin) (n=60 : 32H/28F) et les deux groupes de sujets anémiques : Groupe 2 à anémie ferriprive (AF) (n=50 : 27H/23F) ; Groupe 3 à anémie des maladies chroniques (AMC) (n=82 : 44H/38F). Les hommes sont représentés par la colonne à gauche (en bleu foncé) ; Les femmes sont représentées par la colonne à droite (en bleu clair). Les concentrations moyennes sont représentées au-dessus de chaque colonne.

Le taux du fer sérique ne peut être d'aucun apport supplémentaire au diagnostic sauf qu'il est comme l'hémoglobine, il confirme une diminution significative *(P<0,001)* du pool circulant du fer chez les deux groupes de sujets anémiques (H: 7.34 ± 4.78 µmol/L; F: 4.52 ± 3.65 µmol/L) chez les sujets à AF et (H: 7.05 ± 4.35 µmol/L; F: 4.71± 3.32 µmol/L) chez les sujets à AMC, par rapport au groupe de sujets sains (H: 20.46 ± 4.64 µmol/L; F: 17 .02 ± 5.67 µmol/L), (figure 18). Il n'apporte aucune information en ce qui concerne la différentiation entre les origines des anémies. Donc le fer sérique est aussi un marqueur sans spécificité dans le diagnostic différentiel des anémies. Il donne uniquement une appréciation sur le fer mobilisé qui est disponible à être utilisé par l'érythropoïèse.

III.2.4. l’apport de la ferritinémie

Les taux de la ferritine dans les trois groupes

Ferritinémie µg/L

500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0

Hommes
Femmes

208,16
78,06
28,04
21,87
369,25
294,21

Groupe 1 (témoin)
Groupe 2 (AF)
Groupe 3 (AMC)

Figure 19 : Les concentrations de la ferritine en µg/L dans le groupe1 (témoin) (n=60 : 32H/28F) et les deux groupes de sujets anémiques : Groupe 2 à anémie ferriprive (AF) (n=50 : 27H/23F) ; Groupe 3 à anémie des maladies chroniques (AMC) (n=82 : 44H/38F). Les hommes sont représentés par la colonne à gauche (en bleu foncé) ; Les femmes sont représentées par la colonne à droite (en bleu clair); les concentrations moyennes sont représentées au-dessus de chaque colonne.

La ferritinémie donne une différence significative entre les deux groupes de sujets anémiques (H: 28.04 ± 6.40 µg/L; F: 21.87 ± 5.34 µg/L) chez les patients à AF*(P<0.01)* et (H: 369.25 ± 71.33 µg/L; F: 294 .21 ± 57.96 µg/L) chez les patients à AMC*(P<0.01)* en comparaison au groupe témoin (H: 208.16 ± 46.40 µg/L; F: 78.06 ± 17.39 µg/L), (figure 19). La différence est aussi très significative entre les deux groupes de sujets anémiques eux-mêmes *(P<0.01)*. La ferritinémie basse dans le group 2 nous aide à affirmer que ce groupe est composé de sujets ayant une anémie strictement d’origine carentielle (AF pure), puisqu’elle est en forte concordance avec le taux d’hémoglobine et le fer sérique.

Mais dans le troisième groupe la ferritinémie élevée, est en contradiction avec les paramètres précédents (Hémoglobine basse, et le fer sérique bas) qui indiquent une déficience en fer. Par contre le taux de la ferritine indique un très bon état de réserve en fer (réserves pleines). Ce qu’on peut expliquer par l’influence du processus inflammatoire sur la ferritine qui est une protéine de la

phase aiguë de l'inflammation ce qui n'exclut pas que l'anémie soit d'origine carentielle concomitante à la maladie chronique, donc la ferritine dans ces cas est inutile. Elle ne reflète pas l'état réel des réserves en fer; au contraire elle peut nous induire en erreur.

Jusqu'ici le diagnostic dans le troisième groupe est très difficile et incomplet, il ne permet pas de distinguer entre les causes possibles de cette anémie, le seul examen qui peut trancher dans cette situation est l'exploration des réserves médullaires par le Perls médullaire, un examen rarement praticable vu son caractère invasif et coûteux.

III.2.5. l'apport du Rs-Tf sérique

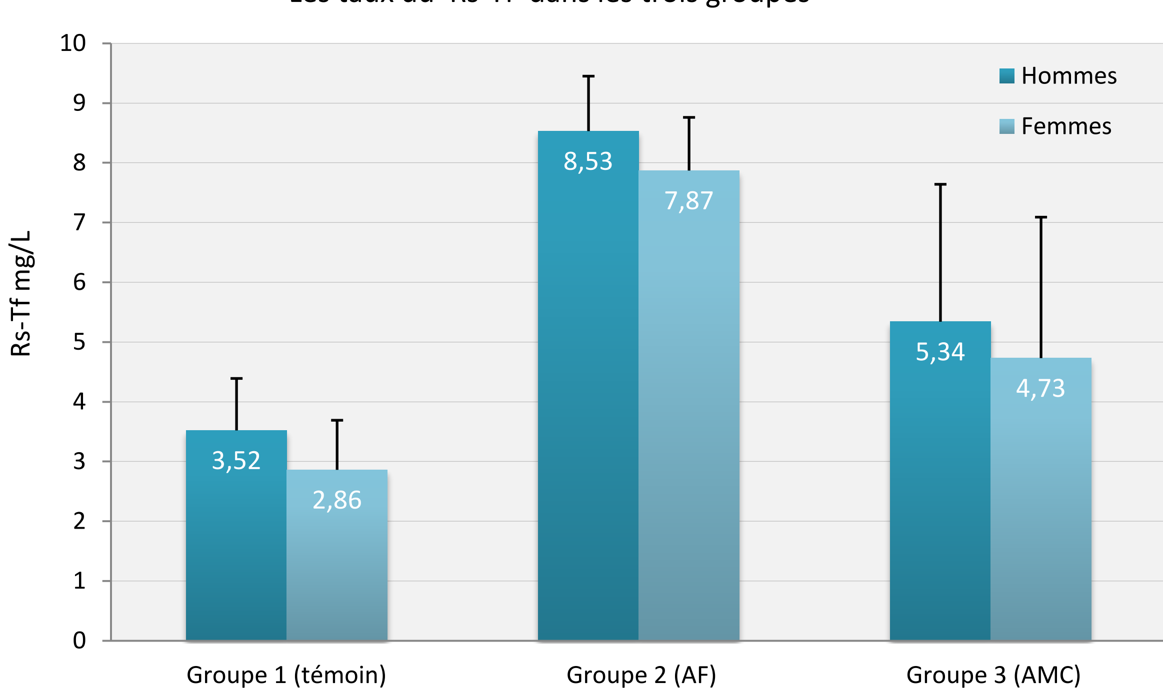


Figure 20 : Les concentrations du récepteur soluble de la transferrine (Rs-Tf) en mg/L dans le groupe1 (témoin) (n=60 : 32H/28F) et les deux groupes de sujets anémiques : Groupe 2 à anémie ferriprive (AF) (n=50 : 27H/23F) ; Groupe 3 à anémie des maladies chroniques (AMC) (n=82 : 44H/38F). Les hommes sont représentés par la colonne à gauche (en bleu foncé) ; Les femmes sont représentées par la colonne à droite (en bleu clair), les concentrations moyennes sont représentées au-dessus de chaque colonne.

Le taux du Rs-Tf est très élevé dans le groupe 2 (H: 8.53 ± 0.92 mg/L; F: 7.87 ± 0.89 mg/L), par rapport au groupe témoin (H: 3.52 ± 0.87 mg/L; F: 2.86 ± 0.83 mg/L), a *(P<0,001)*, ce qui confirme les forts besoins en fer dans ce groupe (une érythropoïèse déficiente en fer), (figure 20). En effet dans le troisième groupe le Rs-Tf est relativement élevé (H: 5.34 ± 2.30 mg/L; F: 4.73 ± 2.36 mg/L), par rapport au groupe témoin *(P<0,05)*, ce qui nous amène à penser que :

- soit les besoins en fer dans ce groupe sont moindres ou ;
- sont fluctués d'un patient à un autre (fluctuation inter-individuelle).

Si on remarque le taux du Rs-Tf, il est très hétérogène dans ce groupe avec des Ecart-types très élevés *(SD ≥ 2.30 mg/L)*, donc il y a une différence de besoin en fer entre les individus constituants ce groupe.

III.2.6. l'apport de l'index Rs-Tf-F

Les performances du diagnostic sont améliorées par le calcul de l'index Rs-Tf/Log(Ferritine). Ce rapport entre la concentration du Rs-Tf et le logarithme décimale de la concentration de la ferritine, implique ces deux paramètres en même temps qui reflètent le pool fonctionnel (les besoins) et le pool de réserve (les stocks) en fer respectivement. Par conséquent les performances du diagnostic sont beaucoup plus améliorées.

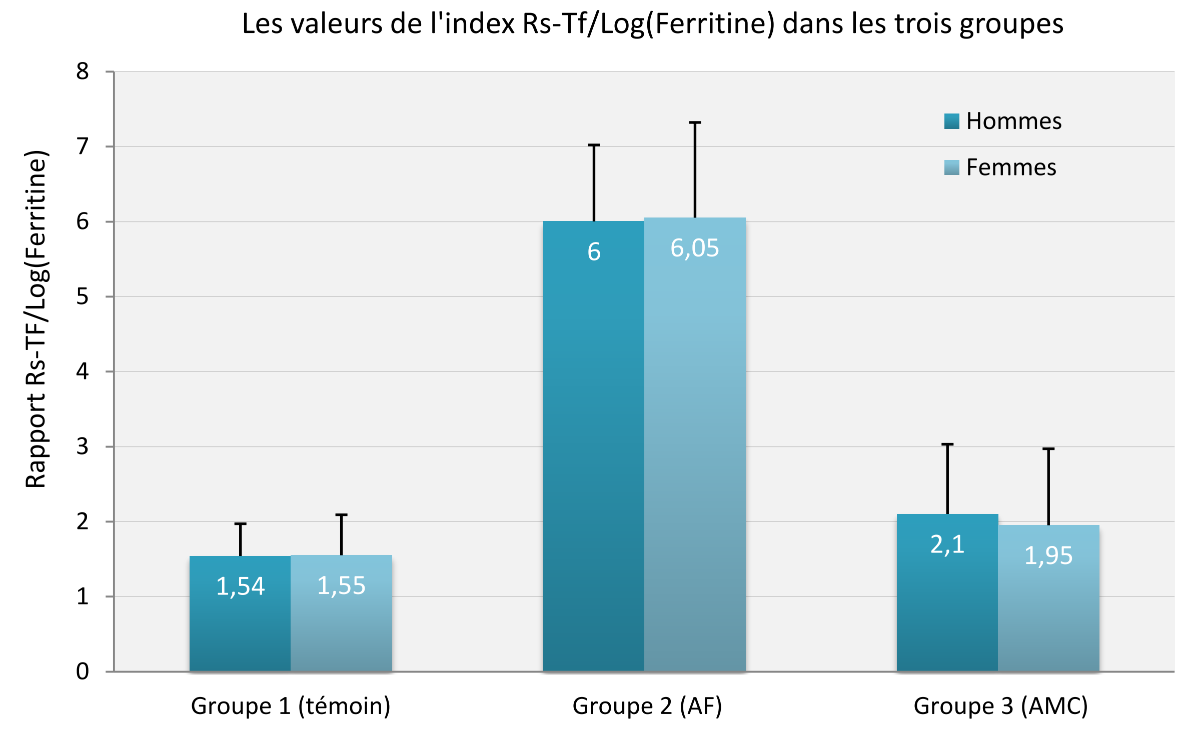


Figure 21 : Les valeurs de l'index Rs-Tf-F dans le groupe1 (témoin) (n=60 : 32H/28F) et les deux groupes de sujets anémiques : Groupe2 à anémie ferriprive (AF) (n=50 : 27H/23F) ; Groupe3 à anémie des maladies chroniques (AMC) (n=82 : 44H/38F). Les hommes sont représentés par la colonne à gauche (en bleu foncé) ; Les femmes sont représentées par la colonne à droite (en bleu clair) ; les concentrations moyennes sont représentées au-dessus de chaque colonne.

La valeur de l'index Rs-Tf-f est significativement élevée *(P<0,001)* chez les sujets à anémie ferriprive (H : 6,00 et F : 6,05) par rapport au sujets sains (H : 1,54 et F : 1,55) ce qui exprime les forts besoins et les réserves épuisées en fer chez ces malades (figure 21). Mais chez les sujets avec des maladies chroniques, sa valeur (H : 2,10 et F : 1,95) est comme le Rs-Tf relativement proche *(P<0,05)* de celle du groupe témoin (H : 1,54 et F : 1,55), il n'indique pas tellement des forts besoins en fer, ce qui est due aux valeurs élevées de la ferritinémie et probablement à la fluctuation intra-sérielle du Rs-Tf comme on l'avait proposé ci-dessus.

On remarque aussi que les valeurs de cet index sont invariables entre les deux sexes *(P>0,05)* puisque c'est un *rapport* entre deux paramètres au sein du même sexe.

C'est à noter que la quantité d'information apportée au diagnostic par les autres paramètres du bilan martial (la transferrinémie et ses indices) n'est pas aussi importante que celles des paramètres discutés ci-dessus.

En résumé, les résultats des trois groupes sont comme suit :

-Le groupe témoin (correspondant aux sujets sains) a un statut martial normal. La totalité des paramètres ayant des taux dans les intervalles de référence chez les deux sexes concernant les 100% des individus.

Du fait que l'effectif de ce groupe est représentatif (n=60), adultes, et qu'il représente les deux sexes, 32 hommes et 28 femmes (plus de 75% des femmes sont en activité génitale). Donc on peut l'utiliser comme référence dans cette étude et à ressortir un intervalle de valeurs normales, de (2,65 à 4,39 mg /L chez l'homme et 2,03 à 3,69 mg/L chez la femme) pour le Rs-Tf, cet intervalle est plus étroit que celui proposé par le fabricant, (2,20 à 5,00 mg /L chez l'homme et 1,90 à 4,40 mg/L chez la femme).

- Le bilan du deuxième groupe est en parfaite concordance avec une anémie ferriprive pour la totalité de ses paramètres, il présente un statut martial perturbé très représentatif de cette anémie: une anémie (Hb < 120g/L) ; une microcytose (VGM<80fl) ; pool circulant (Fer sérique diminué, transferrinémie élevée) ; réserves épuisées (Ferritinémie < 30µg/L) et besoins érythropoïétique en fer très élevés (Rs-Tf très élevé).

- le doute persiste dans le bilan du troisième groupe qui est difficile à interpréter à cause de la ferritinémie qui est très élevée (surcharge des réserves en fer), elle est en contradiction avec les autres paramètres. Ce qui nous pousse à discuter l'homogénéité de ce groupe.

- **Dans un deuxième temps, en fonction du taux du Rs-Tf, concentrations comparées à une valeur critique qui est considérée comme la limite supérieure de l'intervalle des valeurs normales (5 mg /L chez l'homme) et (4,4mg/L chez la femme), Le groupe 3 est subdivisé en deux sous-groupes:**

- Sous-groupe 1 (n= 40) ayant des valeurs du Rs-Tf inferieures à 5 mg/l pour les hommes et inferieures à 4,4 mg/l pour les femmes;
- Sous-groupe 2 (n=42) ayant des valeurs du Rs-Tf supérieures à 5 mg/l pour les hommes et supérieures à 4,4 mg/l pour les femmes;

Les valeurs des paramètres de ce groupe sont redistribuées et récapitulées de nouveau suivant cette division (tableau 5), puis on a discuté les mêmes points de la première partie selon cette nouvelle division

Tableau 5 : les valeurs des paramètres du bilan martial et la CRP dans les deux sous-groupes composants le groupe 3 de sujets anémiques (les résultats sont exprimés séparément entre les deux sexes).

	Groupe 3 (AMC) n=82			
	Sous-groupe 1(AMC pure) n=40		Sous-groupe 2 (AF + AMC) n=42	
	Hommes n=22	Femmes n=18	Hommes n=22	Femmes n=20
Age (ans)	51.45 ± 12.65	52.50 ± 9.55	51.27 ± 11.86	50.95 ± 11,14
Hémoglobine (g/dl)	102.04 ± 6.14	93.64 ± 4.45	96.87 ± 2.75	88.21 ± 5.58
Hématocrite (%)	32.08 ± 2.17	28.62 ± 1.66	30.08 ± 1.75	26.45 ± 2.26
VGM (fl)	77.81 ± 4.05	72.01 ± 2.52	74.15 ± 3.10	69.43 ± 2.55
Fer sérique (µmol/l)	9.19 ± 4.59	6 .29 ± 2.86	4.90 ± 2.83	3.30 ± 3.12
Ferritine (µg/l)	393.05 ± 79.81	320.09 ± 39.32	345.45 ± 53.49	270.91 ± 62.87
Transferrine (mg/l)	3.59 ± 0.45	3.46 ± 0.33	3.99 ± 0.28	3.91 ± 0,48
CST (%)	10.97 ± 6.34	7.59 ± 3.80	12.7±7.44	3.80 ±16.9
CTF (µ mol Fe/l)	89.84 ± 11.23	86.69 ± 8.42	99.87 ± 7.16	97.89 ± 12.16
Rs-Tf (mg/l)	3.16 ± 0.83	2.38 ± 0.58	7.52 ± 0.48	6.85 ± 0.78
Rs-Tf /Log(Ferritine)	1.23 ± 0.36	0.95 ± 0.25	2.97 ± 0.26	2.85 ± 0.45
CRP (mg/l)	>>10	>>10	>>10	>>10

Les résultats sont exprimés en (moyenne ± SD), La CRP (C-Réactive protein) est comparée à la valeur seuil qui indique l'installation d'une réaction inflammatoire (10 mg/L) ; sous-groupe 1 (AMC pure) : sujets anémiques d'origine des maladies chroniques pure; sous-groupe 2 (AF + AMC) : sujets anémiques d'origine ferriprive combinée à des maladies chroniques. VGM : volume globulaire moyen ; CST : Coefficient de Saturation de la Tf ; CTF : Capacité Totale de Fixation de la Tf ; Rs-Tf : Récepteur soluble de la Tf.

III.3. L'évaluation de la corrélation du Rs-Tf avec les autres paramètres du bilan martial dans les deux sous-groupes composant le groupe 3

Pour apprécier l'importance de cette division et l'utilité du paramètre sur lequel elle est basée, on a évalué de nouveau la corrélation du taux de Rs-Tf avec les autres marqueurs du bilan martial au sein de chaque sous-groupe (tableau 6) :

Tableau 6 : les valeurs des coefficients de corrélations (r) des principaux paramètres du bilan martial avec le Rs-Tf dans les deux sous-groupes composants du groupe 3 de sujets anémiques (les résultats sont exprimés séparément entre les deux sexes).

	Groupe 3 (AMC) n=82			
	Sous-groupe 1(AMC pure) n=40		Sous-groupe 2 (AF + AMC) n=42	
	Hommes n=22	Femmes n=18	Hommes n=22	Femmes n=20
Age (ans)	- 0.05	0.10	- 0.03	0.10
Hémoglobine (g/dl)	- 0.98	- 0.93	- 0.99	- 0.98
Hématocrite (%)	- 0.88	- 0.88	- 0.95	- 0.96
VGM (fl)	- 0.93	- 0.80	- 0.96	- 0.97
Fer sérique (µmol/l)	- 0.97	- 0.96	- 0.99	- 0.96
Ferritine (µg/l)	- 0.97	- 0.92	- 0.98	- 0.92
Transferrine (mg/l)	0.96	0.97	0.98	0.98
CST (%)	- 0.98	- 0.95	- 0.99	- 0.95
CTF (µ mol Fe/l)	0.96	0.97	0.98	0.98
Rs-Tf (mg/l)	1	1	1	1
Rs-Tf /Log(Ferritine)	0.99	0.99	0.99	0.98

Les valeurs négatives du (r) indiquent une corrélation inverse ; les valeurs positives du (r) indiquent une variation dans le même sens ; sous-groupe 1 (AMC pure) : sujets anémiques d'origine des maladies chroniques pure; sous-groupe 2 (AF + AMC) : sujets anémiques d'origine ferriprive combinée à des maladies chroniques. VGM : volume globulaire moyen ; CST : Coefficient de Saturation de la transferrine ; CTF : Capacité Totale de Fixation de la Tf ; Rs-Tf : Récepteur soluble de la transferrine.

Les coefficients de corrélation du Rs-Tf avec les autres paramètres du bilan martial, sont significativement améliorés (23%) après cette division dans les deux sous-groupes (tableau 6), ce qui confirme l'hypothèse de l'hétérogénéité du troisième groupe d'une part et affirme l'efficacité du paramètre sur lequel est basée cette division. Donc le dosage du Rs-Tf est très efficace pour la différenciation entre une anémie purement d'origine inflammatoire, d'une anémie d'origine carentielle associée à la maladie inflammatoire chronique.

III.4. Etude des apports informatifs de chaque paramètre dans le diagnostic spécifique des anémies étudiées après la subdivision du troisième groupe

III.4.1. l'apport du taux d'hémoglobine



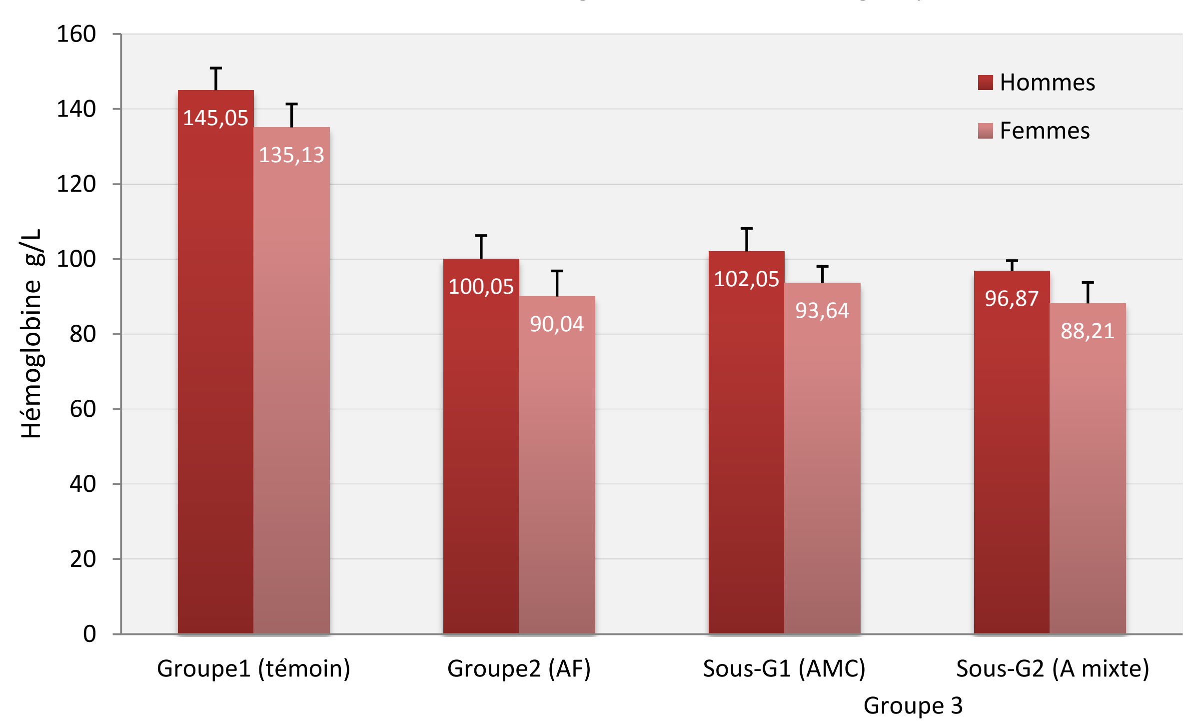


Figure 22 : Les taux d'hémoglobine (Hb) en g/L dans le groupe1 (témoin) (n=60 : 32H/28F) et les deux groupes de sujets anémiques : Groupe 2 à anémie ferriprive (AF) (n=50 : 27H/23F) ; Groupe 3 à anémie des maladies chroniques (AMC) (n=82 : 44H/38F) subdivisé en deux sous-groupes : le sous-G1 (n=40 : 22H/18F) à anémie des maladies chronique pure (AMC) et le sous-G2 (n=42 : 22H/20F) à anémie des maladies chroniques combinée à une carence en fer dite anémie mixte (A mixte): résultats exprimés en moyennes. Les hommes sont représentés par la colonne à gauche (en rouge foncé) ; Les femmes sont représentées par la colonne à droite (en rouge clair), les concentrations moyennes sont représentées au-dessus de chaque colonne.

La différence du taux d'hémoglobine entre les deux sous-groupes constituant le troisième groupe, (H: 102.04 ± 6.14 g/L ; F: 93.64 ± 4.45 g/L) chez le sous-groupe 1 à anémie des maladies chroniques pure (AMC) et (H: 96.87 ± 2.75 g/L ; F: 88.21 ± 5.58 g/L) chez le sous-groupe 2 à anémie mixte (A mixte) n'est pas significative *($P > 0.05$)*. Il n'apporte au diagnostic que la confirmation d'une anémie installée chez ces patients (figure 22). Sans aucune information spécifique sur son origine.

L'hémoglobine reste toujours un marqueur hématologique non spécifique dans le diagnostic différentiel des anémies.

III.4.2. l'apport du volume globulaire moyen

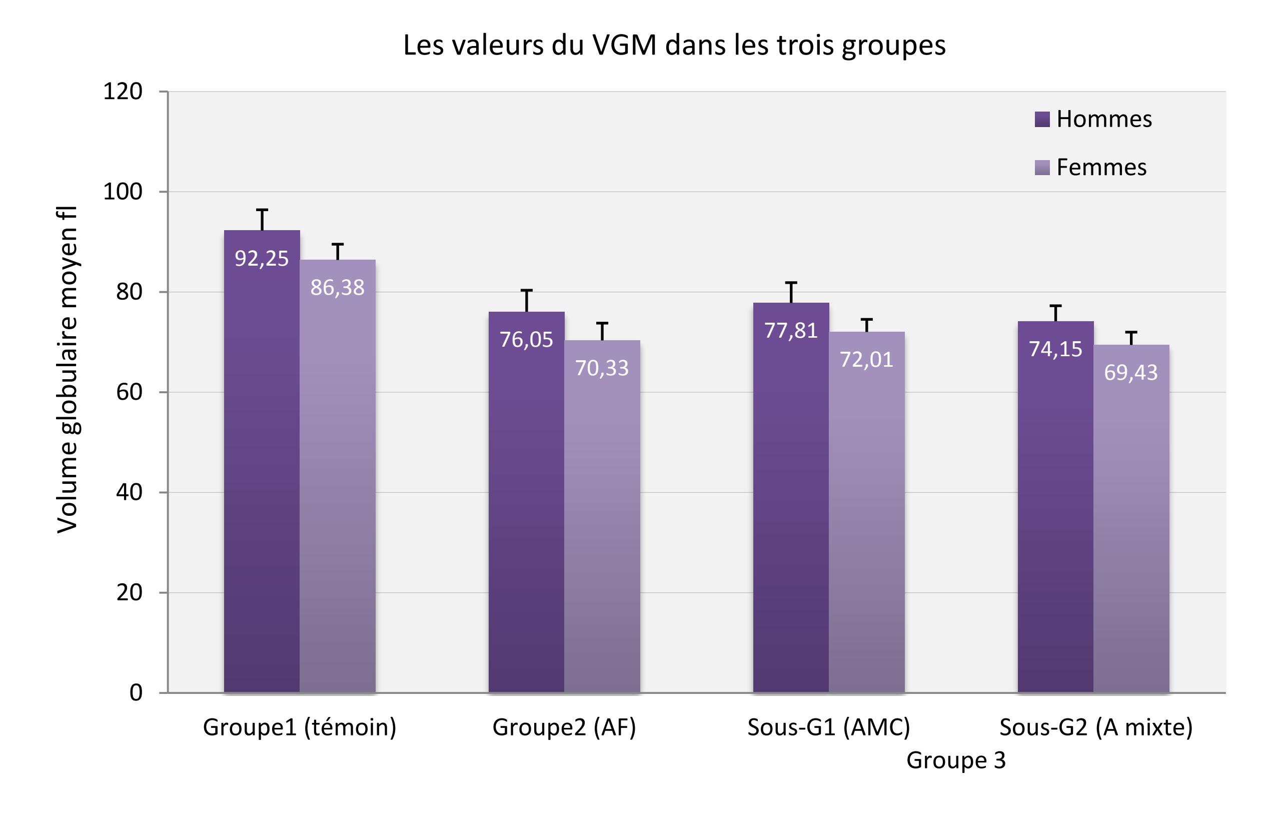


Figure 23 : Les valeurs du volume globulaire moyen (VGM) en fL dans le groupe1 (témoin) (n=60 : 32H/28F) et les deux groupes de sujets anémiques : Groupe 2 à anémie ferriprive (AF) (n=50 : 27H/23F) ; Groupe 3 à anémie des maladies chroniques (AMC) (n=82 : 44H/38F) subdivisé en deux sous-groupes : le sous-G1 (n=40 : 22H/18F) à anémie des maladies chronique pure (AMC) et le sous-G2 (n=42 : 22H/20F) à anémie des maladies chroniques combinée à une carence en fer dite anémie mixte (A mixte): résultats exprimés en moyennes. Les hommes sont représentés par la colonne à gauche (en mauve foncé) ; Les femmes sont représentées par la colonne à droite (en mauve clair), les concentrations moyennes sont représentées au-dessus de chaque colonne.

Le volume globulaire moyen n'indique aucune différence significative *(P=0 ,15)* entre les deux sous-groupes : (H: 77.81 ± 4.05 fl ; F: 72.01 ± 2.52 fl) chez les sujets à AMC pure et (H: 74.15 ± 3.10 fl ; F: 69.43 ± 2.55 fl) chez les sujets à A mixte (figure 23). Donc le VGM reste sans apport informatif à ajouter au diagnostic dans le but de la différentiation entre les causes possibles d'une anémie, sauf qu'il peut nous aider à avoir une idée sur le degré de sévérité d'une anémie, sans aucune spécificité.

III.4.3. l’apport du fer sérique

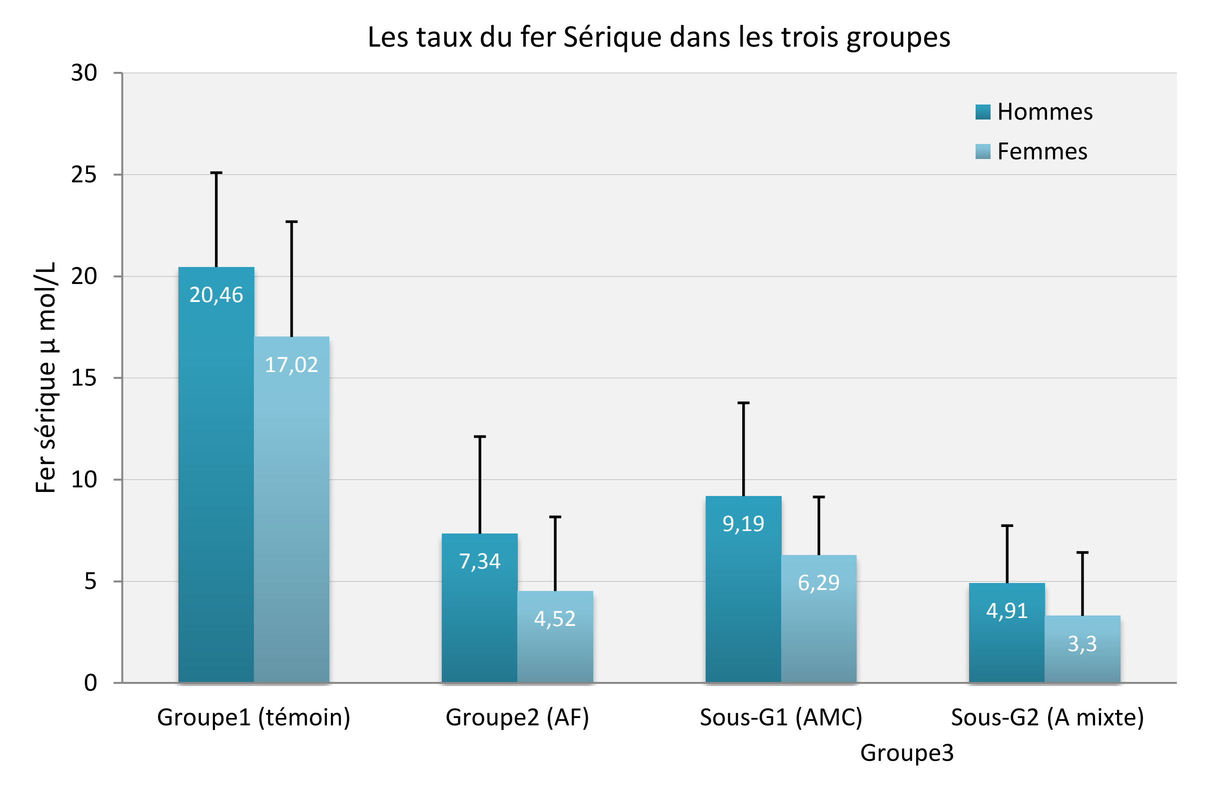


Figure 24 : Les concentrations du fer sérique (Fe) en g/L dans le groupe1 (témoin) (n=60 : 32H/28F) et les deux groupes de sujets anémiques : Groupe 2 à anémie ferriprive pure (AF) (n=50 : 27H/23F) ; Groupe 3 à anémie des maladies chroniques (AMC) (n=82 : 44H/38F) subdivisé en deux sous-groupes : le sous-G1 (n=40 : 22H/18F) à anémie des maladies chronique pure (AMC) et le sous-G2 (n=42 : 22H/20F) à anémie des maladies chroniques combinée à une carence en fer dite anémie mixte (A mixte): résultats exprimés en moyennes. Les hommes sont représentés par la colonne à gauche (en bleu foncé) ; Les femmes sont représentées par la colonne à droite (en bleu clair); les concentrations moyennes sont représentées au-dessus de chaque colonne.

La concentration sérique en fer chez les deux sous-groupes (H: 9.19 ± 4.59 µmol/L; F: 6 .29 ± 2.86 µmol/L chez les sujets à AMC pure) et (H: 4.90 ± 2.83 µmol/L; F: 3.30 ± 3.12 µmol/L chez les sujets à A mixte) (figure 24), reste sans apport informatif à ajouter au diagnostic dans le but de différenciation entre les origines des anémies *(P > 0.05)*. Elle ne peut pas nous permettre d'obtenir une approche fiable, ni sur les réserves, ni sur les besoins ferriques d'un individu ; en effet, compte tenu de sa concentration sérique qui subit une grande variation nychtémérale de 20 à 30%, dépend de l’alimentation (variation rapide), diminue dans les états inflammatoires (activité de l’hepcidine bloquant le fer réticulo-endothélial) et augmente dans les situations d’hémolyse [195].

Le dosage et l’interprétation du fer sérique isolément ne permet ainsi pas de juger du statut martial dans l’organisme, il doit être compléter par d'autres marqueurs du bilan martial plus informatifs. Son dosage est utilisé pour le calcul de la saturation de la transferrine et pour le test d’absorption intestinale.

III.2.4. l'apport de la ferritinémie



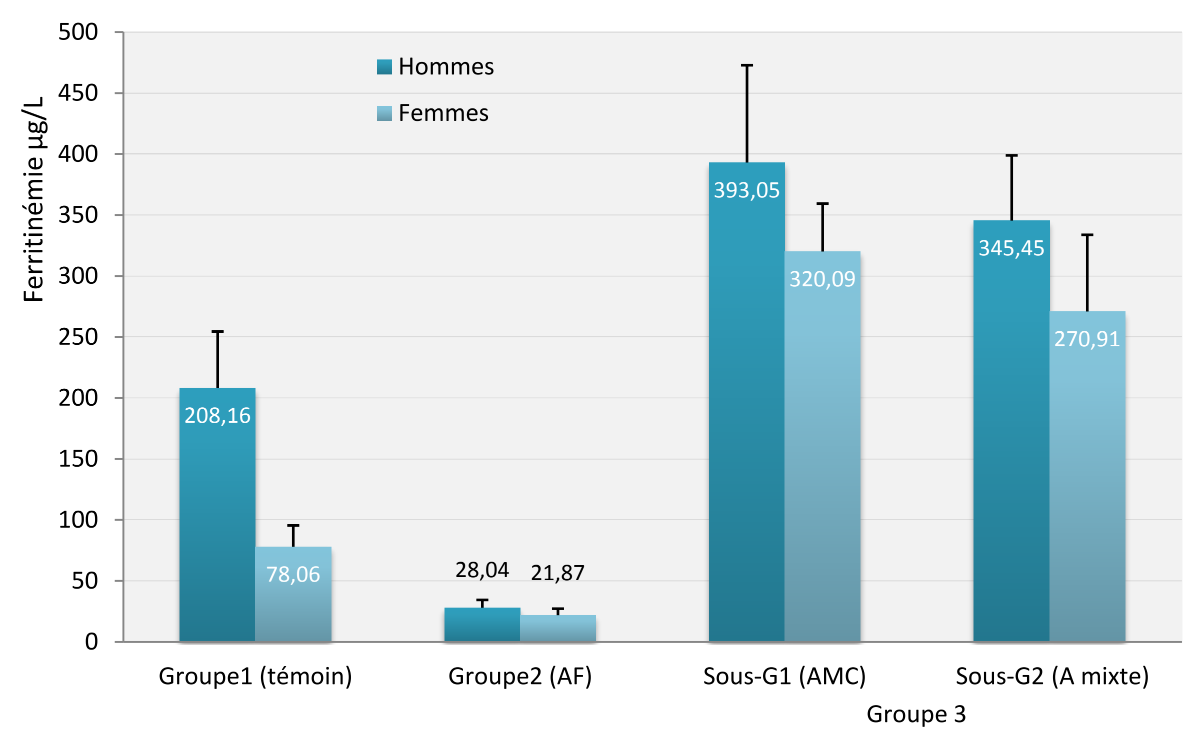


Figure 25 : Les concentrations de la ferritine sérique en µg/L dans le groupe 1 (témoin) (n=60 : 32H/28F) et les deux groupes de sujets anémiques : Groupe 2 à anémie ferriprive pure (AF) (n=50 : 27H/23F) ; Groupe 3 à anémie des maladies chroniques (AMC) (n=82 : 44H/38F) subdivisé en deux sous-groupes : le sous-G1 (n=40 : 22H/18F) à anémie des maladies chronique pure (AMC) et le sous-G2 (n=42 : 22H/20F) à anémie des maladies chroniques combinée à une carence en fer dite anémie mixte (A mixte): résultats exprimés en moyennes. Les hommes sont représentés par la colonne à gauche (en bleu foncé) ; Les femmes sont représentées par la colonne à droite (en bleu clair), les concentrations moyennes sont représentées au-dessus de chaque colonne.

La différence de concentration sérique de la ferritine entre le sous-groupe 1 (H: 393.05 ± 79.81 µg/L; F: 320.09 ± 39.32 µg/L) et le sous-groupe 2 (H: 345.45 ± 53.49 µg/L; F: 270.91 ± 62.87 µg/L) n'est pas très importante *($P > 0.05$)*; elle indique toujours un faux bon état de réserve en fer qui est totalement en contradiction avec un bilan d'un sujet anémique ; elle reste aussi sans apport informatif à ajouter au diagnostic différentiel (figure 25).

La ferritinémie reste un marqueur inutile dans le diagnostic différentiel entre les deux sous-groupes à maladies inflammatoires chroniques. La ferritine peut augmenter dans ces situations, indépendamment des réserves de fer. Elle est en effet une protéine de phase aiguë et augmente dans les états inflammatoires, ce qui peut masquer une carence martiale [195]. Donc le doute reste toujours et le diagnostic reste incomplet. Le clinicien dans ces cas là a besoin d'un marqueur plus spécifique et décisif.

III.2.5. l'apport du Rs-Tf sérique

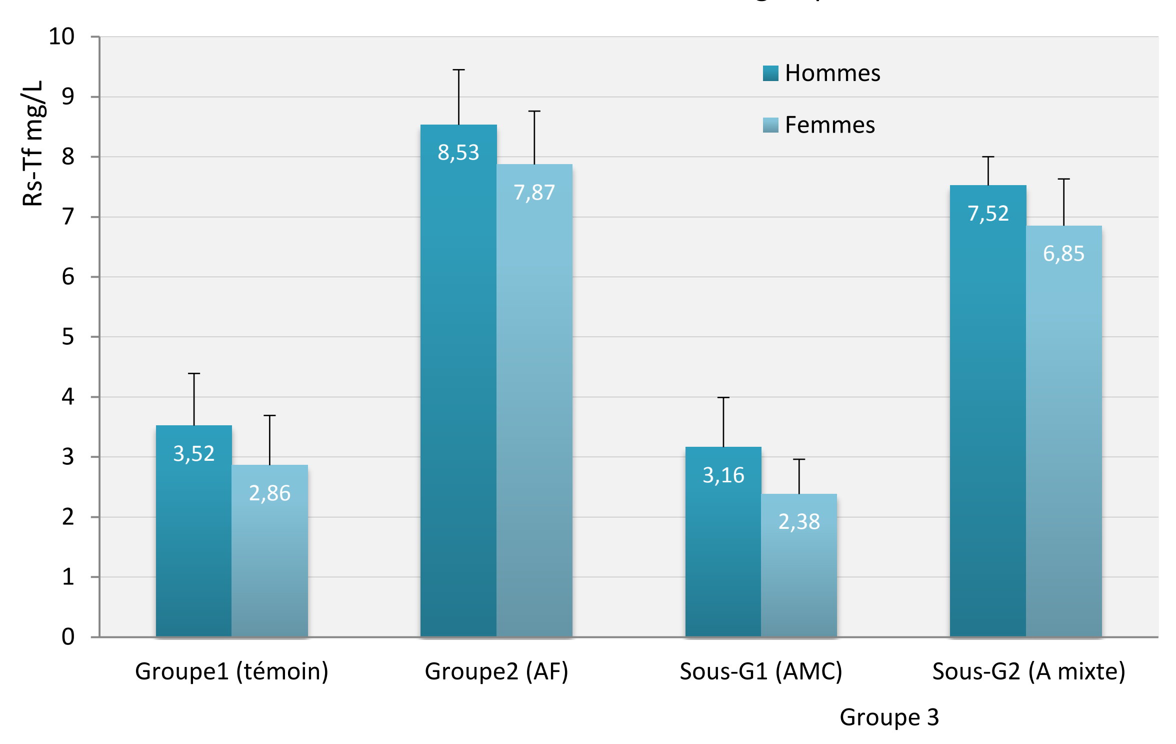


Figure 26 : Les concentrations sérique du récepteur soluble de la transferrine (Rs-Tf) en mg/L dans le groupe1 (témoin) (n=60 : 32H/28F) et les deux groupes de sujets anémiques : Groupe 2 à anémie ferriprive pure (AF) (n=50 : 27H/23F) ; Groupe 3 à anémie des maladies chroniques (AMC) (n=82 : 44H/38F) subdivisé en deux sous-groupes : le sous-G1 (n=40 : 22H/18F) à anémie des maladies chronique pure (AMC) et le sous-G2 (n=42 : 22H/20F) à anémie des maladies chroniques combinée à une carence en fer dite anémie mixte (A mixte): résultats exprimés en moyennes. Les hommes sont représentés par la colonne à gauche (en bleu foncé) ; Les femmes sont représentées par la colonne à droite (en bleu clair), les concentrations moyennes sont représentées au-dessus de chaque colonne.

La différence de concentrations du Rs-Tf est très significative *(P<0.001)*, entre les deux sous-groupes : sujets à AMC pure (H: 3.16 ± 0.83 mg/L; F: 2.38 ± 0.58 mg/L), et sujets à anémie mixte (H: 7.52 ± 0.48 mg/L; F: 6.85 ± 0.78 mg/L). En effet, on remarque que la concentration du Rs-Tf dans le sous-groupe 1 est comparable à celle du groupe témoin *(P>0.05)*, ce qui exclu le déficit martial chez ces sujets (figure 26); celle du sous-groupe 2 est comparable au groupe 2 (sujets à anémie ferriprive) *(P>0.05)*, ce qui nous affirme un déficit martial sous-jacent malgré la ferritinémie élevée qui indique un faux bon état de réserves en fer chez ce sous-groupe (figure 25). Donc le Rs-Tf est un très bon marqueur biochimique dans le diagnostic différentiel des anémies.

III.2.6. l'apport de l'index Rs-Tf-F

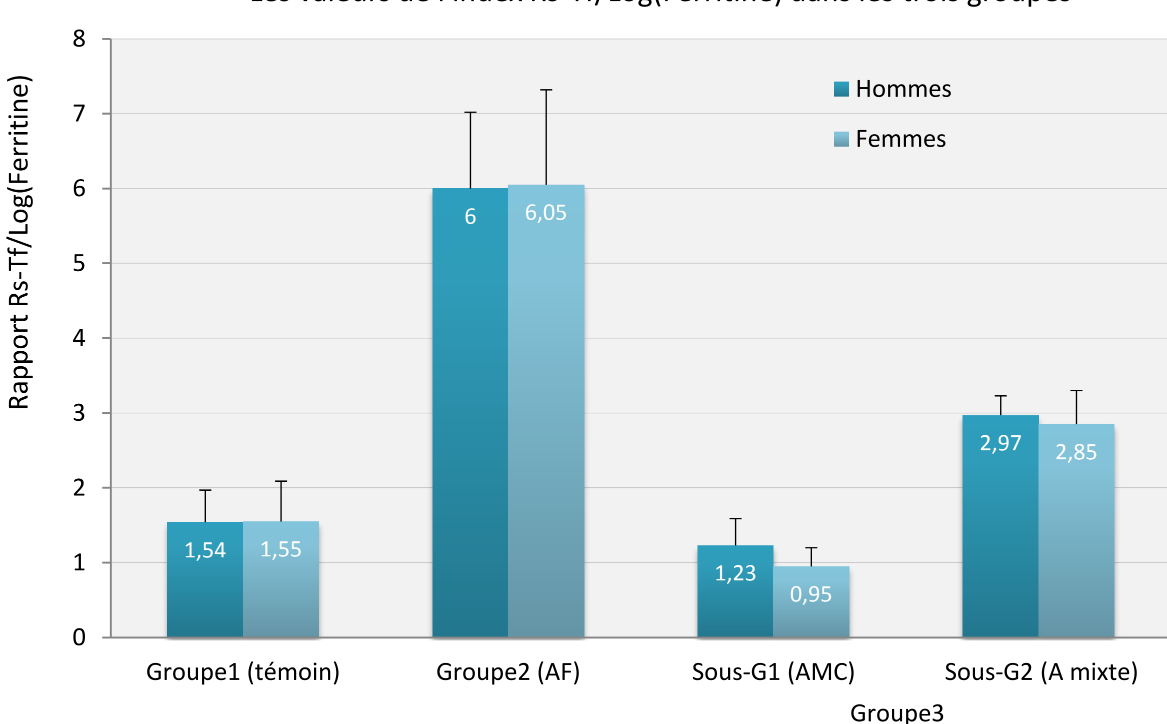


Figure 27 : Les valeurs de l'index Rs-Tf-F dans le groupe1 (témoin) (n=60 : 32H/28F) et les deux groupes de sujets anémiques : Groupe 2 à anémie ferriprive pure (AF) (n=50 : 27H/23F) ; Groupe 3 à anémie des maladies chroniques (AMC) (n=82 : 44H/38F) subdivisé en deux sous-groupes : le sous-G1 (n=40 : 22H/18F) à anémie des maladies chroniques pures (AMC) et le sous-G2 (n=42 : 22H/20F) à anémie des maladies chroniques combinée à une carence en fer dite anémie mixte (A mixte): résultats exprimés en moyennes. Les hommes sont représentés par la colonne à gauche (en bleu foncé) ; Les femmes sont représentées par la colonne à droite (en bleu clair), les concentrations moyennes sont représentées au-dessus de chaque colonne.

L'index Rs-Tf-F dans le sous-groupe 2 (H: 2.97 ± 0.26; F: 2.83 ± 0.45) est plus élevé que dans le sous-groupe1 (H: 1.23 ± 0.36; F: 0.95 ± 0.25) et de celui dans le groupe témoin *($P<0.001$)* et *($P<0.001$)* respectivement (figure 27). Ce qui réaffirme les faibles besoins en fer chez les sujets à anémie purement d'origine inflammatoire par rapport aux sujets à anémie mixte

Le rapport RsTf/Log ferritine apporte au diagnostic une importante quantité d'informations parce qu'il prend en compte simultanément la variabilité des deux marqueurs biologiques du bilan martial les plus importants : le Rs-Tf qui explore les besoins tissulaires en fer (principalement la moelle osseuse) et la ferritine qui exprime les réserves en fer. Donc c'est un rapport (besoins/réserves).

Ce marqueur présente un excellent intérêt dans le diagnostic différentiel des anémies surtout dans les situations les plus difficiles des déficits martiaux combinés aux syndromes inflammatoires ; il permet de trancher entre ces deux types d'anémie [194]:

- une valeur basse inférieure à 1, suggère une anémie secondaire à des maladies chroniques alors que ;
- une valeur élevée supérieure à 2, suggère une anémie d'une carence martiale ou de l'association des deux causes [194].

Il peut détecter très précocement un déficit avant même que l'anémie ne s'installe puisque, une valeur supérieure à 2 (valeur prédictive) signale l'épuisement des réserves en fer et le risque d'installation d'une anémie.

En résumé, les résultats du troisième groupe sont comme suit :

Après sa subdivision en deux sous-groupes, le bilan du troisième groupe est devenu très interprétable sans aucun paradoxe .Cette division nous a permis de différencier entre deux types d'anémies difficiles à distinguer :

- Un sous-groupe de sujets anémiques des maladies inflammatoires chroniques (AMC) ayant un bilan martial caractérisé par (hémoglobinémie basse, VGM bas vers normal, hyposidérémie, ferritinémie normale ou élevée et un Rs-Tf normal, ce qui exclu toute possibilité d'existence d'un déficit martial.
- Un sous-groupe de sujets anémiques d'une combinaison entre une maladie chronique et un déficit martial, dite anémie mixte (A mixte) ayant un bilan martial (sauf la ferritinémie) comparable au bilan de sujets à anémies purement ferriprives, ce qui affirme l'existence d'une carence en fer masquée par la maladie manifeste.

Dans cette étude, la variation du taux Rs-Tf sérique nous a permis de sélectionner 42 patients parmi les 82 du troisième groupe (42/82), soit 51% des patients ayant une carence martiale sous-jacente et il nous a confirmé l'hypothèse proposée sur l'hétérogénéité de ce groupe.

On remarque que l'apport d'information ajouté par le Rs-Tf est très important, il peut orienter le diagnostic dans le bon sens, donc c'est un bon marqueur pour la spécification des anémies. Maintenant la question qui se pose : **quelle est sa position dans la hiérarchie de prescription des examens biologiques ?**

IV. La position du Rs-Tf dans la Hiérarchie de prescription des examens

Le diagnostic biologique d'une anémie repose classiquement sur un hémogramme qui prend la première position dans la hiérarchie de prescription des examens, pour explorer le degré de sévérité de l'anémie (par le biais de l'Hb et le VGM) puis les autres paramètres du bilan martial (Figure 28), dans 70% des cas le bilan martial est interprétable sans aller plus loin que l'exploration des réserves en fer par la ferritinémie. Mais dans le cas où le bilan est ininterprétable, on fait appel à des marqueurs biologiques plus spécifiques, comme les anémies associées aux maladies inflammatoires chroniques, les cas les plus fréquents où la différenciation entre les causes possibles de l'anémie est très difficile.

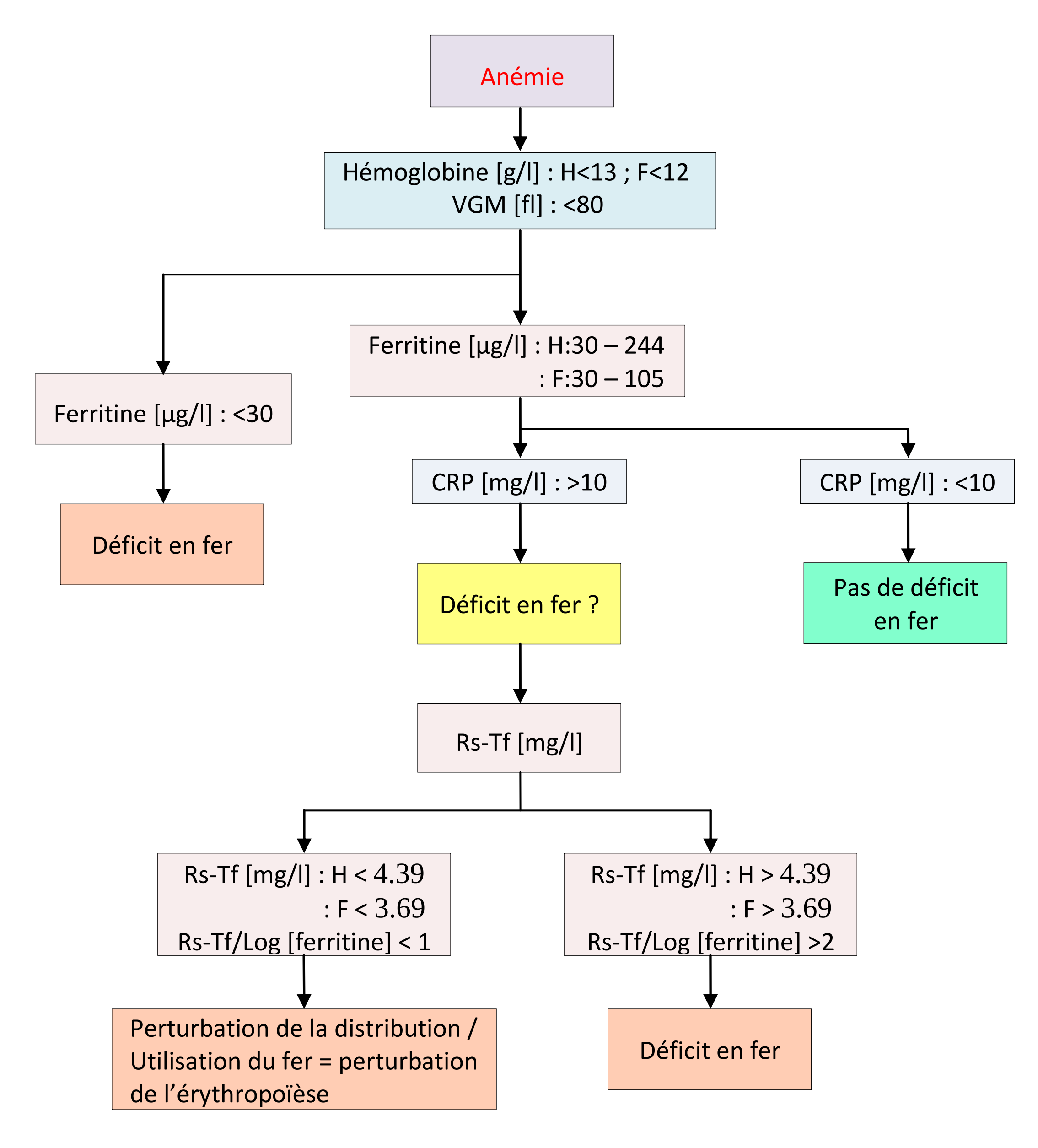


Figure 28 : Algorithme pour le diagnostic différentiel entre anémie ferriprive, anémie de maladie chronique et anémie de maladie chronique associée à une carence en fer.

Les marqueurs hématologiques (taux d'hémoglobine, le volume globulaire moyen et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine) donnent juste une appréciation sur le degré de sévérité de l'anémie.

Dans les cas des anémies ferriprives pures le diagnostic biologique ne va pas plus loin que la férritinémie, il suffit d'explorer l'état des réserves en fer. Une ferritinémie inferieure à 30 µg/l est considérée comme la preuve de réserves en fer insuffisantes (valeur prédictive d'anémie ferriprive de 92 à 98%) [195]. Elle peut nous confirmer que l'anémie est strictement d'origine carentielle. Donc la ferritinémie reste le marqueur biologique de choix dans l'exploration des réserves en fer en dehors de maladie inflammatoire chronique. Mais si la ferritinémie est normale ou élevée le diagnostic nécessite plus d'investigations:

Le dosage de la CRP est nécessaire pour mettre en question la possibilité d'installation d'un processus inflammatoire :

- Une CRP négative (inferieure à 10 mg/l) nous permet l'exclusion d'une cause inflammatoire et à rechercher d'autres causes d'anémies comme:

Anémies par excès de perte

- hémorragies aiguës
- anémie hémolytique: raccourcissement de la durée de vie des globules rouges GR < 120 jours)

Anémies par défaut de production

-par insuffisance qualitative (défaut d'érythropoïétine en cas d'insuffisance rénale ; insuffisance endocrinienne…)

-par insuffisance quantitative (anomalies de synthèse d'ADN; anomalies de synthèse de l'Hb, défaut de synthèse de la globine : thalassémies)

- Une CRP positive (supérieure à 10 mg/l) nous confirme une réaction inflammatoire donc il y a une forte possibilité que l'anémie soit d'origine inflammatoire, mais ça n'exclue pas la possibilité d'un déficit martial masqué par cette maladie, la problématique devient comme suit : « est-ce que l'anémie est due à la maladie inflammatoire ou à une carence martiale sous-jacente ? »

Dans ces cas complexes où le bilan initial n'est pas concluant, il ne reste qu'à se référer à l'examen primordial, qui est la ponction de la moelle osseuse (le Perls médullaire), la seule

technique utilisée pour l'exploration des réserves médullaires en fer. Mais elle est rarement praticable vu son caractère coûteux et douloureux, raisons pour lesquelles on essaie toujours de trouver une autre technique tout aussi sensible et spécifique, sans ses inconvénients.

Ici vient l'intérêt du dosage du Rs-Tf comme un marqueur différentiel entre les causes possibles de cette anémie :

- Une concentration inferieure à 4.39 mg/L chez l'homme et à 3.69 mg/L chez la femme, nous oriente vers une anémie provoquée par la perturbation de l'érythropoïèse sous l'influence des cytokines d'origine inflammatoire.
- Une concentration supérieure à 4.39 mg/L chez l'homme et à 3.69 mg/L chez la femme, nous oriente vers une anémie d'une combinaison entre le processus inflammatoire et une carence martiale coexistente.

Remarque : dans cette hiérarchie le Rs-Tf occupe la position du Perls médullaire

V. Les marqueurs biologiques à tenir en compte et leurs apports informatifs au diagnostic d'une érythropoïèse déficiente en fer.

Les paramètres biologiques, sériques, actuels et praticables dans l'exploration du statut martial à retenir sont les suivants :

V.1. Hémoglobinémie

La baisse de l'hémoglobinémie, présente pour le diagnostic de carence martiale, une faible sensibilité, du fait d'une apparition tardive après une baisse de 20 à 30% des réserves en fer de l'organisme, et une faible spécificité.

V.2. Volume globulaire moyen

Couramment diminué (VGM inferieur à 80fl) dans la carence martiale, moins souvent diminué vers la normale dans les anémies des maladies chroniques. Le VGM est également un paramètre non spécifique, peu sensible et surtout tardif [194].

V.3. Fer sérique

L'exploration du fer sérique isolément ne résume pas la physiopathologie d'une anémie. Il est sujet à de nombreuses variations : au cours du nycthémère, en fonction des apports alimentaires, des traitements ou de l'existence d'une hémolyse. Il n'est jamais utilisé seule pour la définition d'une carence martiale [196]. Comme il est impossible d'interpréter un résultat de fer sérique isolé, on ajoute à ce dosage celui de la transferrine ou de sa mesure indirecte, UIBC (Unsaturated Iron Binding Capacity) représentant la capacité latente de fixation du fer ou TIBC (fer + UIBC) représentant la capacité totale de fixation du fer. Donc son dosage est nécessaire à la mesure de la capacité totale de fixation de la transferrine et son coefficient de saturation.

V.4. Transferrine

La transferrine est la protéine plasmatique qui assure le transport du fer dans l'organisme. Chaque molécule de transferrine peut lier 2 ions Fe^{3+} au maximum, soit 1,25 mg de fer pour 1 gramme de transferrine. Sa synthèse est contrôlée par le fer tissulaire, augmentée lorsqu'il est bas et diminuée s'il est élevé. Sa concentration subit aussi des variations circadiennes de 17 à 70% [195]. La transferrine est normale ou diminuée dans les états inflammatoires. Elle peut aussi diminuer dans la malnutrition.

V.5. Le coefficient de saturation de la transferrine (CST)

Le CST est également considéré comme le reflet des stocks du fer de l'organisme. Il correspond au coefficient de liaison du fer à sa principale protéine de transport. En pratique, il est considéré comme l'indicateur du fer disponible pour l'érythropoïèse [195]. Il est calculé par le rapport du fer sérique avec la capacité totale de fixation de la transferrine. La diminution du CST en dessous de 16 % est un marqueur de la carence martiale à un stade avancée. Il ne s'agit toutefois pas d'un paramètre sensible de la carence en fer, car il ne diminue que s'il n'y a plus de réserves de fer et que l'hémoglobine a diminué [195]. Son principal intérêt est d'orienter vers une surcharge en fer lorsque sa valeur dépasse 45% [197], dans les conditions où la quantité de fer disponible est supérieure à la demande: hémochromatose, érythropoïèse inefficace (syndrome myélodysplasique, anémie aplastique).Un syndrome inflammatoire se traduit aussi par une baisse du CST. Cependant dans ce cas, la diminution du fer plasmatique n'est pas due à une carence en fer.

V.6. La ferritinémie

La ferritinémie est, en l'absence de maladie inflammatoire, directement proportionnelle à la quantité de réserves en fer de l'organisme. Son dosage est considéré comme le meilleur marqueur pour explorer ces réserves. L'augmentation de 1 µg/L de la concentration en ferritine correspond au stockage de 8 mg de fer. Cette relation n'est plus valable au-delà de 1000 µg/L car la ferritine tissulaire s'agrège alors sous forme d'hémosidérine insoluble [198]. Donc elle reste un indicateur de choix du stock en fer et le dosage de référence pour le diagnostic des déficits ou des surcharges, en l'absence de syndrome inflammatoire.

Le seuil diagnostique généralement admis est <15 µg/L. cependant les seuils utilisés varient entre 12 µg/L et 30 µg/L selon les études. Dans les situations inflammatoires chroniques, les seuils diagnostiques peuvent être augmentés [199], en générale autour de 100 µg/L.

V.7. Le récepteur soluble de la transferrine (Rs-Tf)

Le Rs-Tf est alors un marqueur très utile dans le diagnostic des anémies. Sa concentration plasmatique est proportionnelle à la quantité de récepteurs présents à la surface des cellules hématopoïétiques et augmente en cas de carence en fer. La concentration du Rs-Tf n'est pas modifiée par l'existence d'un syndrome inflammatoire ; en revanche, elle est corrélée à l'intensité de l'érythropoïèse [196]. En l'absence de standardisation des dosages, les valeurs usuelles diffèrent d'un réactif à l'autre, ce qui impose d'utiliser le même réactif pour le suivi d'un patient. Le dosage du Rs-Tf, n'est pas cumulable avec celui de la ferritine. Cependant l'index Rs-Tf/ Log

ferritine, qui implique deux variables influencées antiparallèlement par les stocks de fer, permet une estimation fiable du fer corporel et son calcul peut se révéler utile pour le diagnostic de carence en fer associée à un syndrome inflammatoire [200,201]. Un quotient inferieur à 1 suggère une anémie de maladie chronique alors qu'un quotient supérieur à 2 suggère une carence en fer associée à l'anémie de maladie chronique [195].

Les paramètres biologiques d'appréciation de l'état du fer mentionnés ci-avant sont à envisager en fonction du contexte clinique dans le (tableau 7) décisionnel ci-dessous :

Tableau 7 : Marqueurs hématologiques et ferriques selon les situations cliniques : anémie ferriprive (AF), anémie des maladies chroniques (AMC) ou anémie mixte (AF+AMC) [202].

Paramètre	**Modifications**	**AF**	**AMC**	**AF +AMC**
Hémoglobine	Activité de l'Erythropoïèse	↓	↓	↓
VGM	Activité de l'Erythropoïèse	↓	N ou ↓	N ou ↓
Fer sérique	statut martial (pool labile)	↓	↓	↓
Transferrine	Statut martial (transport)	↑	N ou ↓	↓
Saturation de la TF	Statut martial (disponibilité)	↓	↓	↓
TIBC/Rs-TF	statut martial (trans/beusoi)	↑	↓	↑ ou N
Ferritine	réserves de fer	↓	↑	N ou ↑
Rs-TF	Fonctionnel (beusoi)	↑	N	↑
Index Rs-Tf-F	Fonctionnel/réserve	> 2	< 1	>2

VGM : volume globulaire moyen ; CST : Coefficient de Saturation de la transferrine ; TIBC : Capacité Totale de Fixation de la transferrine ; Rs-Tf : Récepteur soluble de la transferrine ; N: normale ; ↓ : diminution ; ↑ : augmentation.

Conclusion

Le récepteur de la transferrine est une protéine importante dans le métabolisme du fer et de l'érythropoïèse. Le dosage du Rs-Tf, qui est une forme tronquée et soluble du récepteur membranaire, est maintenant accessible par des techniques immunoenzymatiques, automatisé avec une bonne précision intra- et inter-essai. Le Rs-Tf reflète le contenu tissulaire en RTf qui est augmenté par la déficience en fer et proportionnel à l'intensité de l'érythropoïèse. La mesure du Rs-Tf est particulièrement recommandée pour l'évaluation de l'efficacité de l'érythropoïèse et ses besoins en fer :

- pour le diagnostic d'une carence en fer isolé de tout syndrome inflammatoire.
- pour le diagnostic d'une carence en fer associée à une maladie inflammatoire chronique ou à une infection où la ferritine est inutile pour explorer les réserves (faussement normale ou élevée par l'influence des cytokines de l'inflammation) ; contrairement à la variation du Rs-Tf qui est indépendante de tout état inflammatoire.

La prise en compte des deux variables essentielles influencées par les stocks de fer dans l'index Rs-Tf/Log ferritine, optimise la valeur du test. Cet index aussi permet d'orienter le diagnostic pour distinguer entre ces deux types d'anémie.

Cette étude nous a permis de proposer le dosage des récepteurs de transferrine sérique comme un examen prometteur pour l'exploration de l'intensité de l'érythropoïèse et le diagnostic différentiel des anémies avec un intervalle de référence de 2.65 à 4.39 mg/L chez les hommes et les femmes ménopausées, et de 2.03 à 3.69 mg/L chez les femmes en activité génitale. Toutefois, le développement d'un standard international pour le dosage du Rs-Tf accompagné de normes pour les valeurs de référence et les seuils pathologiques aiderait à l'introduction du Rs-Tf comme nouveau paramètre dans l'évaluation du métabolisme du fer et de l'érythropoïèse.

Perspectives

Dans le but de la continuité de ce travail, le spectre de prescription de ce marqueur peut être élargi à d’autres intérêts qui sont:

- le diagnostic d'une carence fonctionnelle en fer chez les enfants, les adolescents, les athlètes (réserves en fer faibles donc ferritine peu informative) ;
- le diagnostic précoce d'une érythropoïèse déficiente en fer chez les femmes enceintes ;
- le diagnostic différentiel des anémies ;
- le suivi de l'efficacité et le meilleur ajustement du traitement à l’érythropoïétine des insuffisants rénaux ou de tout autre traitement visant à augmenter l’érythropoïèse ;
- la surveillance des transplantations de la moelle osseuse ;
- comme examen alternatif au Perls médullaire dans l’évaluation du fer médullaire.

Références bibliographiques

1. Omar, S., Feki, M., et Kaabachi, N., *Le métabolisme du fer : revue générale et récents développement*. Ann Biol Clin, 2006. **64**(6) : 523-34.

2. Lafond, J., L., et Arnaud, J., *Métabolisme du fer*. Rev Prant, 2000. **50** : 945-49.

3. Shayeghi, M., Latunde-Dada, G.O., Oakhill, J.S., Laftah, A.H., Takeuchi, K., Halliday, N., Khan, Y., Warley, A., McCann, F.E., Hider, R.C., Frazer, D.M., Anderson, G.J., Vulpe, C.D., Simpson, R.J., and McKie, A.T., *Identification of an intestinal heme transporter.* Cell, 2005. **122**(5): 789-801.

4. Gunshin, H., Starr, C.N., Direnzo, C., Fleming, M.D., Jin, J., Greer, E.L., Sellers, V.M., Galica, S.M., and Andrews, N.C., *Cybrd1 (duodenal cytochrome b) is not necessary for dietary iron absorption in mice.* Blood, 2005. **106**(8): 2879-83.

5. D'après Pietrangelo A, *NEJM*, 2004.

6. Mackenzie, B. and Garrick, M.D., *Iron Imports. II. Iron uptake at the apical membrane in the intestine.* Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2005. **289**(6): G981-6.

7. Miret, S., Simpson, R.J., and McKie, A.T., *Physiology and molecular biology of dietary iron absorption.* Annu Rev Nutr, 2003. **23**: 283-301.

8. Johnson, D.C., Dean, D.R., Smith, A.D., and Johnson, M.K., *Structure, function, and formation of biological iron-sulfur clusters.* Annu Rev Biochem, 2005. **74**: 247-81.

9. Cheng, Y., Zak, O., Aisen, P., Harrison, S.C., and Walz, T., *Structure of the human transferrin receptor-transferrin complex.* Cell, 2004. **116**(4): 565-76.

10. Fleming, M.D., Romano, M.A., Su, M.A., Garrick, L.M., Garrick, M.D., and Andrews, N.C., *Nramp2 is mutated in the anemic Belgrade (b) rat: evidence of a role for Nramp2 in endosomal iron transport.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(3): 1148-53.

11. Ohgami, R.S., Campagna, D.R., Greer, E.L., Antiochos, B., McDonald, A., Chen, J., Sharp, J.J., Fujiwara, Y., Barker, J.E., and Fleming, M.D., *Identification of a ferrireductase required for efficient transferrin-dependent iron uptake in erythroid cells.* Nat Genet, 2005. **37**(11): 1264- 1269.

12. Lim, J.E., Jin, O., Bennett, C., Morgan, K., Wang, F., Trenor, C.C., 3rd, Fleming, M.D., and Andrews, N.C., *A mutation in Sec15l1 causes anemia in hemoglobin deficit (hbd) mice.* Nat Genet, 2005. **37**(11): 1270-3.

13. Wilkins, S.J., Frazer, D.M., Millard, K.N., McLaren, G.D., and Anderson, G.J., *Iron metabolism in the hemoglobin deficit mouse: correlation of diferric transferrin with hepcidin expression.* Blood, 2005.

14. White, R.A., Boydston, L.A., Brookshier, T.R., McNulty, S.G., Nsumu, N.N., Brewer, B.P., and Blackmore, K., *Iron metabolism mutant hbd mice have a deletion in Sec15l1, which has homology to a yeast gene for vesicle docking.* Genomics, 2005. **86**(6): 668-73.

15. Li, H. and Qian, Z.M., *Transferrin/transferrin receptor-mediated drug delivery.* Medicinal Research Reviews, 2002. **22**(3): 225-250.

16. Baker, E., Baker, S.M., and Morgan, E.H., *Characterisation of non-transferrin-bound iron (ferric citrate) uptake by rat hepatocytes in culture.* Biochim Biophys Acta, 1998. **1380**(1): 21-30.

17. Inman, R.S. and Wessling-Resnick, M., *Characterization of transferrin-independent iron transport in K562 cells. Unique properties provide evidence for multiple pathways of iron uptake.* J Biol Chem, 1993. **268**(12): 8521-8.

18. Thorstensen, K., Trinder, D., Zak, O., and Aisen, P., *Uptake of iron from N-terminal halftransferrin by isolated rat hepatocytes. Evidence of transferrin-receptor-independent iron uptake.* Eur J Biochem, 1995. **232**(1): 129-33.

19. Gelvan, D., Fibach, E., Meyron-Holtz, E.G., and Konijn, A.M., *Ferritin uptake by human erythroid precursors is a regulated iron uptake pathway.* Blood, 1996. **88**(8): 3200-7.

20. Yang, J., Goetz, D., Li, J.Y., Wang, W., Mori, K., Setlik, D., Du, T., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Strong, R., and Barasch, J., *An iron delivery pathway mediated by a lipocalin.* Mol Cell, 2002. **10**(5): 1045-56.

21. Testa, U., *Apoptotic mechanisms in the control of erythropoiesis.* Leukemia, 2004. **18**(7): 1176-99.

22. Zermati, Y., Fakhouri, F., Delarue, R., Ribeil, J. A., Knebelmann, B., and Hermine, O., *Actualités Néphrologiques*, FLAMMARION MÉDECINE-SCIENCES, 2003.

23. Wenger R.H., *Cellular adaptation to hypoxia: O2-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors, and O2-regulated gene expression.* Faseb J, 2002. **16** (10): 1151-62.

24. D'après http://www.people.virginia.edu/~dp5m/phys_304/figures/hemoglobin.jpg (consulté le 07/12/2010).

25. Stamatoyannopoulos, G., *Control of globin gene expression during development and erythroid differentiation.* Exp Hematol, 2005. **33**(3): 259-71.

26. Quigley, J.G., Yang, Z., Worthington, M.T., Phillips, J.D., Sabo, K.M., Sabath, D.E., Berg, C.L., Sassa, S., Wood, B.L., and Abkowitz, J.L., *Identification of a human heme exporter that is essential for erythropoiesis.* Cell, 2004. **118**(6): 757-66.

27. Cianetti, L., Segnalini, P., Calzolari, A., Morsilli, O., Felicetti, F., Ramoni, C., Gabbianelli, M., Testa, U., and Sposi, N.M., *Expression of alternative transcripts of ferroportin-1 during human erythroid differentiation.* Haematologica, 2005. **90**(12): 1595-606.

28. Ponka, P., *Tissue-specific regulation of iron metabolism and heme synthesis: distinct control mechanisms in erythroid cells.* Blood, 1997. **89**(1): 1-25.

29. Poss, K.D. and Tonegawa, S., *Heme oxygenase 1 is required for mammalian iron reutilization.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. **94**(20): 10919-24.

30. Beaumont, C., and Canonne-Hergaux, F., *[Erythrophagocytosis and recycling of heme iron in normal and pathological conditions; regulation by hepcidin].* Transfus Clin Biol, 2005. **12**(2): 123-30.

31. Knutson, M. and Wessling-Resnick, M., *Iron metabolism in the reticuloendothelial system.* Crit Rev Biochem Mol Biol, 2003. **38**(1): 61-88.

32. Fillet, G., Beguin, Y., and Baldelli, L., *Model of reticuloendothelial iron metabolism in humans: abnormal behavior in idiopathic hemochromatosis and in inflammation.* Blood, 1989. **74**(2): p. 844-51.

33. Delaby, C., Pilard, N., Hetet, G., Driss, F., Grandchamp, B., Beaumont, C., and Canonne-Hergaux, F., *A physiological model to study iron recycling in macrophages.* Exp Cell Res, 2005. **310**(1): 43-53.

34. Athens, J.W., *The reticuloendothelial (mononuclear phagocyte) system and the spleen*. Wintrobe's Clinical Hematology, ed. G.R. Lee, Ed. 1993, Philadelphia, PA: Lea & Febiger.

35. Fagoonee, S., Gburek, J., Hirsch, E., Marro, S., Moestrup, S.K., Laurberg, J.M., Christensen, E.I., Silengo, L., Altruda, F., and Tolosano, E., *Plasma protein haptoglobin modulates renal iron loading.* Am J Pathol, 2005. **166**(4): 973-83.

36. Le Lan, C., Loreal, O., Cohen, T., Ropert, M., Glickstein, H., Laine, F., Pouchard, M., Deugnier, Y., Le Treut, A., Breuer, W., Cabantchik, Z.I., and Brissot, P., *Redox active plasma iron in C282Y/C282Y hemochromatosis.* Blood, 2005. **105**(11): 4527-31.

37. Chua, A.C., Olynyk, J.K., Leedman, P.J., and Trinder, D., *Nontransferrin-bound iron uptake byhepatocytes is increased in the Hfe knockout mouse model of hereditary hemochromatosis.* Blood, 2004. **104**(5): 1519-25.

38. Trinder, D., Oates, P.S., Thomas, C., Sadleir, J., and Morgan, E.H., *Localisation of divalent metal transporter 1 (DMT1) to the microvillus membrane of rat duodenal enterocytes in iron deficiency, but to hepatocytes in iron overload.* Gut, 2000. **46**(2): 270-6.

39. Deaglio, S., Capobianco, A., Cali, A., Bellora, F., Alberti, F., Righi, L., Sapino, A., Camaschella, C., and Malavasi, F., *Structural, functional, and tissue distribution analysis of human transferrin receptor-2 by murine monoclonal antibodies and a polyclonal antiserum.* Blood, 2002. **100**(10): 3782-9.

40. Idzerda, R.L., Huebers, H., Finch, C.A., and McKnight, G.S., *Rat transferrin gene expression: tissue-specific regulation by iron deficiency.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1986. **83**(11): 3723-7.

41. Robb, A. and Wessling-Resnick, M., *Regulation of transferrin receptor 2 protein levels by transferrin.* Blood, 2004. **104**(13): 4294-9.

42. West, A.P., Jr., Bennett, M.J., Sellers, V.M., Andrews, N.C., Enns, C.A., and Bjorkman, P.J., *Comparison of the interactions of transferrin receptor and transferrin receptor 2 with transferrin and the hereditary hemochromatosis protein HFE.* J Biol Chem, 2000. **275**(49): 38135-8.

43. Donovan, A., Lima, C.A., Pinkus, J.L., Pinkus, G.S., Zon, L.I., Robine, S., and Andrews, N.C., *The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis.* Cell Metab, 2005. **1**(3): 191-200.

44. Gomme, P.T., McCann, K.B., and Bertolini, J., *Transferrin: structure, function and potential therapeutic actions.* Drug Discov Today, 2005. **10**(4): 267-73.

45. Levin, M.J., Tuil, D., Uzan, G., Dreyfus, J.C., and Kahn, A., *Expression of the transferrin gene during development of non-hepatic tissues: high level of transferrin mRNA in fetal muscle and adult brain.* Biochem Biophys Res Commun, 1984. **122**(1): 212-7.

46. Rolfs, A., Kvietikova, I., Gassmann, M., and Wenger, R.H., *Oxygen-regulated transferring expression is mediated by hypoxia-inducible factor-1.* J Biol Chem, 1997. **272**(32): 20055-62.

47. Heilmeyer, L., Keller, W., Vivell, O., Betke, K., Woehler, F., and Keiderling, W., *[Congenital atransferrinemia.].* Schweiz Med Wochenschr, 1961. **91**: 1203.

48. Craven, C.M., Alexander, J., Eldridge, M., Kushner, J.P., Bernstein, S., and Kaplan, J., *Tissue distribution and clearance kinetics of non-transferrin-bound iron in the hypotransferrinemic mouse: a rodent model for hemochromatosis.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1987. **84**(10): 3457-61.

49. Lambert, L.A., Perri, H., and Meehan, T.J., *Evolution of duplications in the transferrin family of proteins.* Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol, 2005. **140**(1): 11-25.

50. Farnaud, S. and Evans, R.W., *Lactoferrin--a multifunctional protein with antimicrobial properties.* Mol Immunol, 2003. **40**(7): 395-405.

51. Ward, P.P., Mendoza-Meneses, M., Cunningham, G.A., and Conneely, O.M., *Iron status in mice carrying a targeted disruption of lactoferrin.* Mol Cell Biol, 2003. **23**(1): 178-85.

52. Yang, J., Mori, K., Li, J.Y., and Barasch, J., *Iron, lipocalin, and kidney epithelia.* Am J Physiol Renal Physiol, 2003. **285**(1): F9-18.

53. Goetz, D.H., Holmes, M.A., Borregaard, N., Bluhm, M.E., Raymond, K.N., and Strong, R.K., *The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophoremediated iron acquisition.* Mol Cell, 2002. **10**(5): 1033-43.

54. Devireddy, L.R., Gazin, C., Zhu, X., and Green, M.R., *A cell-surface receptor for lipocalin 24p3 selectively mediates apoptosis and iron uptake.* Cell, 2005. **123**(7): 1293-305.

55. Ghosh, S., Hevi, S., and Chuck, S.L., *Regulated secretion of glycosylated human ferritin from hepatocytes.* Blood, 2004. **103**(6): 2369-76.

56. Levi, S., Corsi, B., Bosisio, M., Invernizzi, R., Volz, A., Sanford, D., Arosio, P., and Drysdale, J., *A human mitochondrial ferritin encoded by an intronless gene.* J Biol Chem, 2001. **276**(27): 24437-40.

57. Levi, S. and Arosio, P., *Mitochondrial ferritin.* Int J Biochem Cell Biol, 2004. **36**(10): 1887-9.

58. White, K. and Munro, H.N., *Induction of ferritin subunit synthesis by iron is regulated at both the transcriptional and translational levels.* J Biol Chem, 1988. **263**(18): 8938-42.

59. Rogers, J., Lacroix, L., Durmowitz, G., Kasschau, K., Andriotakis, J., and Bridges, K.R., *The role of cytokines in the regulation of ferritin expression.* Adv Exp Med Biol, 1994. **356**: 127- 32.

60. Torti, S.V., Kwak, E.L., Miller, S.C., Miller, L.L., Ringold, G.M., Myambo, K.B., Young, A.P., and Torti, F.M., *The molecular cloning and characterization of murine ferritin heavy chain, a tumor necrosis factor-inducible gene.* J Biol Chem, 1988. **263**(25): 12638-44.

61. Wu, K.J., Polack, A., and Dalla-Favera, R., *Coordinated regulation of iron-controlling genes, H-ferritin and IRP2, by c-MYC.* Science, 1999. **283**(5402): 676-9.

62. Gunshin, H., Mackenzie, B., Berger, U.V., Gunshin, Y., Romero, M.F., Boron, W.F., Nussberger, S., Gollan, J.L., and Hediger, M.A., *Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter.* Nature, 1997. **388**(6641): 482-8.

63. Gruenheid, S., Cellier, M., Vidal, S., and Gros, P., *Identification and characterization of a second mouse Nramp gene.* Genomics, 1995. **25**(2): 514-25.

64. Hubert, N. and Hentze, M.W., *Previously uncharacterized isoforms of divalent metal transporter (DMT)-1: implications for regulation and cellular function.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. **99**(19): 12345-50.

65. Fleming, M.D., Trenor, C.C., 3rd, Su, M.A., Foernzler, D., Beier, D.R., Dietrich, W.F., and Andrews, N.C., *Microcytic anaemia mice have a mutation in Nramp2, a candidate iron transporter gene.* Nat Genet, 1997. **16**(4): 383-6.

66. Canonne-Hergaux, F., Fleming, M.D., Levy, J.E., Gauthier, S., Ralph, T., Picard, V., Andrews, N.C., and Gros, P., *The Nramp2/DMT1 iron transporter is induced in the duodenum of microcytic anemia mk mice but is not properly targeted to the intestinal brush border.* Blood, 2000. **96**(12): 3964-70.

67. Garrick, M., Scott, D., Walpole, S., Finkelstein, E., Whitbred, J., Chopra, S., Trivikram, L., Mayes, D., Rhodes, D., Cabbagestalk, K., Oklu, R., Sadiq, A., Mascia, B., Hoke, J., and Garrick, L., *Iron supplementation moderates but does not cure the Belgrade anemia.* Biometals, 1997. **10**(2): 65-76.

68. Gunshin, H., Fujiwara, Y., Custodio, A.O., Direnzo, C., Robine, S., and Andrews, N.C., *Slc11a2 is required for intestinal iron absorption and erythropoiesis but dispensable in placenta and liver.* J Clin Invest, 2005. **115**(5): 1258-66.

69. Iolascon, A., d'Apolito, M., Servedio, V., Cimmino, F., Piga, A., and Camaschella, C., *Microcytic anemia and hepatic iron overload in a child with compound heterozygous mutations in DMT1 (SCL11A2).* Blood, 2006. **107**(1): 349-54.

70. Mims, M.P., Guan, Y., Pospisilova, D., Priwitzerova, M., Indrak, K., Ponka, P., Divoky, V., and Prchal, J.T., *Identification of a human mutation of DMT1 in a patient with microcytic anemia and iron overload.* Blood, 2005. **105**(3): 1337-42.

71. Mukhopadhyay, C.K., Mazumder, B., and Fox, P.L., *Role of hypoxia-inducible factor-1 in transcriptional activation of ceruloplasmin by iron deficiency.* J Biol Chem, 2000. **275**(28): 21048-54.

72. Kuhn, D.E., Baker, B.D., Lafuse, W.P., and Zwilling, B.S., *Differential iron transport into phagosomes isolated from the RAW264.7 macrophage cell lines transfected with Nramp1Gly169 or Nramp1Asp169.* J Leukoc Biol, 1999. **66**(1): 113-9.

73. Zwilling, B.S., Kuhn, D.E., Wikoff, L., Brown, D., and Lafuse, W., *Role of iron in Nramp1- mediated inhibition of mycobacterial growth.* Infect Immun, 1999. **67**(3): 1386-92.

74. Donovan, A., Brownlie, A., Zhou, Y., Shepard, J., Pratt, S.J., Moynihan, J., Paw, B.H., Drejer, A., Barut, B., Zapata, A., Law, T.C., Brugnara, C., Lux, S.E., Pinkus, G.S., Pinkus, J.L., Kingsley, P.D., Palis, J., Fleming, M.D., Andrews, N.C., and Zon, L.I., *Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter.* Nature, 2000. **403**(6771): 776-81.

75. McKie, A.T., Marciani, P., Rolfs, A., Brennan, K., Wehr, K., Barrow, D., Miret, S., Bomford, A., Peters, T.J., Farzaneh, F., Hediger, M.A., Hentze, M.W., and Simpson, R.J., *A novel duodenal iron-regulated transporter, IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation.* Mol Cell, 2000. **5**(2): 299-309.

76. Abboud, S. and Haile, D.J., *A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism.* J Biol Chem, 2000. **275**(26): 19906-12.

77. Devalia, V., Carter, K., Walker, A.P., Perkins, S.J., Worwood, M., May, A., and Dooley, J.S., *Autosomal dominant reticuloendothelial iron overload associated with a 3-base pair deletion in the ferroportin 1 gene (SLC11A3).* Blood, 2002. **100**(2): 695-7.

78. Liu, X.B., Yang, F., and Haile, D.J., *Functional consequences of ferroportin 1 mutations.* Blood Cells Mol Dis, 2005. **35**(1): 33-46.

79. De Domenico, I., Ward, D.M., Nemeth, E., Vaughn, M.B., Musci, G., Ganz, T., and Kaplan, J., *The molecular basis of ferroportin-linked hemochromatosis.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2005. **102**(25): 8955-60.

80. Pignatti, E., Mascheroni, L., Sabelli, M., Barelli, S., Biffo, S., and Pietrangelo, A., *Ferroportin is a monomer in vivo in mice.* Blood Cells Mol Dis, 2006. **36**(1): 26-32.

81. Yang, F., Liu, X.B., Quinones, M., Melby, P.C., Ghio, A., and Haile, D.J., *Regulation of reticuloendothelial iron transporter MTP1 (Slc11a3) by inflammation.* J Biol Chem, 2002. **277**(42): 39786-91.

82. Burdo, J.R., Menzies, S.L., Simpson, I.A., Garrick, L.M., Garrick, M.D., Dolan, K.G., Haile, D.J., Beard, J.L., and Connor, J.R., *Distribution of divalent metal transporter 1 and metal transport protein 1 in the normal and Belgrade rat.* J Neurosci Res, 2001. **66**(6): 1198-207.

83. Lymboussaki, A., Pignatti, E., Montosi, G., Garuti, C., Haile, D.J., and Pietrangelo, A., *The role of the iron responsive element in the control of ferroportin1/IREG1/MTP1 gene expression.* J Hepatol, 2003. **39**(5): 710-5.

84. Knutson, M.D., Vafa, M.R., Haile, D.J., and Wessling-Resnick, M., *Iron loading and erythrophagocytosis increase ferroportin 1 (FPN1) expression in J774 macrophages.* Blood, 2003. **102**(12): 4191-7.

85. Yang, F., Wang, X., Haile, D.J., Piantadosi, C.A., and Ghio, A.J., *Iron increases expression of iron-export protein MTP1 in lung cells.* Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2002. **283**(5): L932-9.

86. Canonne-Hergaux, F., Donovan, A., Delaby, C., Wang, H.J., and Gros, P., *Comparative studies of duodenal and macrophage ferroportin proteins.* Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2006. **290**(1): G156-63.

87. Chen, H., Su, T., Attieh, Z.K., Fox, T.C., McKie, A.T., Anderson, G.J., and Vulpe, C.D., *Systemic regulation of Hephaestin and Ireg1 revealed in studies of genetic and nutritional iron deficiency.* Blood, 2003. **102**(5): 1893-9.

88. Nemeth, E., Tuttle, M.S., Powelson, J., Vaughn, M.B., Donovan, A., Ward, D.M., Ganz, T., and Kaplan, J., *Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization.* Science, 2004. **306**(5704): 2090-3.

89. Drakesmith, H., Schimanski, L.M., Ormerod, E., Merryweather-Clarke, A.T., Viprakasit, V., Edwards, J.P., Sweetland, E., Bastin, J.M., Cowley, D., Chinthammitr, Y., Robson, K.J., and Townsend, A.R., *Resistance to hepcidin is conferred by hemochromatosis-associated mutations of ferroportin.* Blood, 2005. **106**(3): 1092-7.

90. Delaby, C., Pilard, N., Goncalves, A.S., Beaumont, C., and Canonne-Hergaux, F., *Presence of the iron exporter ferroportin at the plasma membrane of macrophages is enhanced by iron loading and down-regulated by hepcidin.* Blood, 2005. **106**(12): 3979-84.

91. Knutson, M.D., Oukka, M., Koss, L.M., Aydemir, F., and Wessling-Resnick, M., *Iron release from macrophages after erythrophagocytosis is up-regulated by ferroportin 1 overexpression and down regulated by hepcidin.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2005. **102**(5): 1324-8.

92. McKie, A.T., Latunde-Dada, G.O., Miret, S., McGregor, J.A., Anderson, G.J., Vulpe, C.D., Wrigglesworth, J.M., and Simpson, R.J., *Molecular evidence for the role of a ferric reductase in iron transport.* Biochem Soc Trans, 2002. **30**(4): 722-4.

93. Latunde-Dada, G.O., Van der Westhuizen, J., Vulpe, C.D., Anderson, G.J., Simpson, R.J., and McKie, A.T., *Molecular and functional roles of duodenal cytochrome B (Dcytb) in iron metabolism.* Blood Cells Mol Dis, 2002. **29**(3): 356-60.

94. Ohgami, R.S., Campagna, D.R., Antiochos, B., Wood, E.B., Sharp, J.J., Barker, J.E., and Fleming, M.D., *nm1054: a spontaneous, recessive, hypochromic, microcytic anemia mutation in the mouse.* Blood, 2005. **106**(10): 3625-31.

95. Hellman, N.E. and Gitlin, J.D., *Ceruloplasmin metabolism and function.* Annu Rev Nutr, 2002. **22**: 439-58.

96. Curzon, G., *The effects of some ions and chelating agents on the oxidase activity of caeruloplasmin.* Biochem J, 1960. **77**: 66-73.

97. Osaki, S., Johnson, D.A., and Frieden, E., *The possible significance of the ferrous oxidase activity of ceruloplasmin in normal human serum.* J Biol Chem, 1966. **241**(12): 2746-51.

98. Fortna, R.R., Watson, H.A., and Nyquist, S.E., *Glycosyl phosphatidylinositol-anchored ceruloplasmin is expressed by rat Sertoli cells and is concentrated in detergent-insoluble membrane fractions.* Biol Reprod, 1999. **61**(4): 1042-9.

99. Patel, B.N. and David, S., *A novel glycosylphosphatidylinositol-anchored form of ceruloplasmin is expressed by mammalian astrocytes.* J Biol Chem, 1997. **272**(32): 20185-90.

100. Gitlin, J.D., *Transcriptional regulation of ceruloplasmin gene expression during inflammation.* Biol Chem, 1988. **263**(13): 6281-7.

101. Patel, B.N., Dunn, R.J., Jeong, S.Y., Zhu, Q., Julien, J.P., and David, S., *Ceruloplasmin regulates iron levels in the CNS and prevents free radical injury.* J Neurosci, 2002. **22**(15): 6578-86.

102. Yamamoto, K., Yoshida, K., Miyagoe, Y., Ishikawa, A., Hanaoka, K., Nomoto, S., Kaneko, K., Ikeda, S., and Takeda, S., *Quantitative evaluation of expression of iron-metabolism genes in ceruloplasmin-deficient mice.* Biochim Biophys Acta, 2002. **1588**(3): 195-202.

103. Harris, Z.L., Durley, A.P., Man, T.K., and Gitlin, J.D., *Targeted gene disruption reveals an essential role for ceruloplasmin in cellular iron efflux.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. **96**(19): 10812-7.

104. Cherukuri, S., Potla, R., Sarkar, J., Nurko, S., Harris, Z.L., and Fox, P.L., *Unexpected role of ceruloplasmin in intestinal iron absorption.* Cell Metab, 2005. **2**(5): 309-19.

105. Vulpe, C.D., Kuo, Y.M., Murphy, T.L., Cowley, L., Askwith, C., Libina, N., Gitschier, J., and Anderson, G.J., *Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the sla mouse.* Nat Genet, 1999. **21**(2): 195-9.

106. Frazer, D.M., Vulpe, C.D., McKie, A.T., Wilkins, S.J., Trinder, D., Cleghorn, G.J., and Anderson, G.J., *Cloning and gastrointestinal expression of rat hephaestin: relationship to other iron transport proteins.* Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2001. **281**(4): G931-9.

107. Kuo, Y.M., Su, T., Chen, H., Attieh, Z., Syed, B.A., McKie, A.T., Anderson, G.J., Gitschier, J., and Vulpe, C.D., *Mislocalisation of hephaestin, a multicopper ferroxidase involved in basolateral intestinal iron transport, in the sex linked anaemia mouse.* Gut, 2004. **53**(2): 201-6.

108. Chen, H., Attieh, Z.K., Su, T., Syed, B.A., Gao, H., Alaeddine, R.M., Fox, T.C., Usta, J., Naylor, C.E., Evans, R.W., McKie, A.T., Anderson, G.J., and Vulpe, C.D., *Hephaestin is a ferroxidase that maintains partial activity in sex-linked anemia mice.* Blood, 2004. **103**(10): 3933-9.

109. Van Vlierberghe, H., Langlois, M., and Delanghe, J., *Haptoglobin polymorphisms and iron homeostasis in health and in disease.* Clin Chim Acta, 2004. **345**(1-2): 35-42.

110. Lim, S.K., Kim, H., bin Ali, A., Lim, Y.K., Wang, Y., Chong, S.M., Costantini, F., and Baumman, H., *Increased susceptibility in Hp knockout mice during acute hemolysis.* Blood, 1998. **92**(6): 1870-7.

111. Kristiansen, M., Graversen, J.H., Jacobsen, C., Sonne, O., Hoffman, H.J., Law, S.K., and Moestrup, S.K., *Identification of the haemoglobin scavenger receptor.* Nature, 2001. **409**(6817): 198-201.

112. Graversen, J.H., Madsen, M., and Moestrup, S.K., *CD163: a signal receptor scavenging haptoglobin-hemoglobin complexes from plasma.* Int J Biochem Cell Biol, 2002. **34**(4): 309-14.

113. Tolosano, E. and Altruda, F., *Hemopexin: structure, function, and regulation.* DNA Cell Biol, 2002. **21**(4): 297-306.

114. Zakhary, R., Poss, K.D., Jaffrey, S.R., Ferris, C.D., Tonegawa, S., and Snyder, S.H., *Targeted gene deletion of heme oxygenase 2†reveals neural role for carbon†monoxide.* PNAS, 1997. **94**(26): 14848-14853.

115. Elbirt, K.K. and Bonkovsky, H.L., *Heme oxygenase: recent advances in understanding its regulation and role.* Proc Assoc Am Physicians, 1999. **111**(5): 438-47.

116. Yachie, A., Niida, Y., Wada, T., Igarashi, N., Kaneda, H., Toma, T., Ohta, K., Kasahara, Y., and Koizumi, S., *Oxidative stress causes enhanced endothelial cell injury in human heme oxygenase-1 deficiency.* J Clin Invest, 1999. **103**(1): 129-35.

117. Willnow, T.E., Hilpert, J., Armstrong, S.A., Rohlmann, A., Hammer, R.E., Burns, D.K., and Herz, J., *Defective forebrain development in mice lacking gp330/megalin.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1996. **93**(16): 8460-4.

118. Eisenstein, R.S., *Iron regulatory proteins and the molecular control of mammalian iron metabolism.* Annu Rev Nutr, 2000. **20**: 627-62.

119. Hentze, M.W., Muckenthaler, M.U., and Andrews, N.C., *Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism.* Cell, 2004. **117**(3): 285-97.

120. Smith, S.R., Cooperman, S., Lavaute, T., Tresser, N., Ghosh, M., Meyron-Holtz, E., Land, W., Ollivierre, H., Jortner, B., Switzer, R., 3rd, Messing, A., and Rouault, T.A., *Severity of neurodegeneration correlates with compromise of iron metabolism in mice with iron regulatory protein deficiencies.* Ann N Y Acad Sci, 2004. **1012**: 65-83.

121. Cooperman, S.S., Meyron-Holtz, E.G., Olivierre-Wilson, H., Ghosh, M.C., McConnell, J.P., and Rouault, T.A., *Microcytic anemia, erythropoietic protoporphyria, and neurodegeneration in mice with targeted deletion of iron-regulatory protein 2.* Blood, 2005. **106**(3): 1084-91.

122. Galy, B., Ferring, D., Minana, B., Bell, O., Janser, H.G., Muckenthaler, M., Schumann, K., and Hentze, M.W., *Altered body iron distribution and microcytosis in mice deficient in iron regulatory protein 2 (IRP2).* Blood, 2005. **106**(7): 2580-9.

123. LaVaute, T., Smith, S., Cooperman, S., Iwai, K., Land, W., Meyron-Holtz, E., Drake, S.K., Miller, G., Abu-Asab, M., Tsokos, M., Switzer, R., 3rd, Grinberg, A., Love, P., Tresser, N., and Rouault, T.A., *Targeted deletion of the gene encoding iron regulatory protein-2 causes misregulation of iron metabolism and neurodegenerative disease in mice.* Nat Genet, 2001. **27**(2): 209-14.

124. Galy, B., Ferring, D., and Hentze, M.W., *Generation of conditional alleles of the murine iron regulatory protein (IRP)-1 and -2 genes.* Genesis, 2005. **43**(4): 181-188.

125. Meyron-Holtz, E.G., Ghosh, M.C., Iwai, K., LaVaute, T., Brazzolotto, X., Berger, U.V., Land, W., Ollivierre-Wilson, H., Grinberg, A., Love, P., and Rouault, T.A., *Genetic ablations of iron regulatory proteins 1 and 2 reveal why iron regulatory protein 2 dominates iron homeostasis.* Embo J, 2004. **23**(2): 386-95.

126. Lebron, J.A., Bennett, M.J., Vaughn, D.E., Chirino, A.J., Snow, P.M., Mintier, G.A., Feder, J.N., and Bjorkman, P.J., *Crystal structure of the hemochromatosis protein HFE and characterization of its interaction with transferrin receptor.* Cell, 1998. **93**(1): 111-23.

127. Giannetti, A.M., Snow, P.M., Zak, O., and Bjorkman, P.J., *Mechanism for multiple ligand recognition by the human transferrin receptor.* PLoS Biol, 2003. **1**(3): E51.

128. Roy, C.N., Penny, D.M., Feder, J.N., and Enns, C.A., *The hereditary hemochromatosis protein, HFE, specifically regulates transferrin-mediated iron uptake in HeLa cells.* J Biol Chem, 1999. **274**(13): 9022-8.

129. Carlson, H., Zhang, A.S., Fleming, W.H., and Enns, C.A., *The hereditary hemochromatosis protein, HFE, lowers intracellular iron levels independently of transferrin receptor 1 in TRVb cells.* Blood, 2005. **105**(6): 2564-70.

130. Zhang, A.S., Xiong, S., Tsukamoto, H., and Enns, C.A., *Localization of iron metabolism-related mRNAs in rat liver indicate that HFE is expressed predominantly in hepatocytes.* Blood, 2004. **103**(4): 1509-14.

131. Hashimoto, K., Hirai, M., and Kurosawa, Y., *Identification of a mouse homolog for the human hereditary haemochromatosis candidate gene.* Biochem Biophys Res Commun, 1997. **230**(1): 35-9.

132. Waheed, A., Parkkila, S., Saarnio, J., Fleming, R.E., Zhou, X.Y., Tomatsu, S., Britton, R.S., Bacon, B.R., and Sly, W.S., *Association of HFE protein with transferrin receptor in crypt enterocytes of human duodenum.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. **96**(4): 1579-84.

133. Griffiths, W.J., Kelly, A.L., Smith, S.J., and Cox, T.M., *Localization of iron transport and regulatory proteins in human cells.* Qjm, 2000. **93**(9): 575-87.

134. Parkkila, S., Waheed, A., Britton, R.S., Feder, J.N., Tsuchihashi, Z., Schatzman, R.C., Bacon, B.R., and Sly, W.S., *Immunohistochemistry of HLA-H, the protein defective in patients with hereditary hemochromatosis, reveals unique pattern of expression in gastrointestinal tract.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. **94**(6): 2534-9.

135. Parkkila, S., Waheed, A., Britton, R.S., Bacon, B.R., Zhou, X.Y., Tomatsu, S., Fleming, R.E., and Sly, W.S., *Association of the transferrin receptor in human placenta with HFE, the protein defective in hereditary hemochromatosis.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. **94**(24): 13198- 202.

136. Riedel, H.D., Muckenthaler, M.U., Gehrke, S.G., Mohr, I., Brennan, K., Herrmann, T., Fitscher, B.A., Hentze, M.W., and Stremmel, W., *HFE downregulates iron uptake from transferrin and induces iron-regulatory protein activity in stably transfected cells.* Blood, 1999. **94**(11): 3915-21.

137. Davies, P.S. and Enns, C.A., *Expression of the hereditary hemochromatosis protein HFE increases ferritin levels by inhibiting iron export in HT29 cells.* J Biol Chem, 2004. **279**(24): 25085-92.

138. Drakesmith, H., Sweetland, E., Schimanski, L., Edwards, J., Cowley, D., Ashraf, M., Bastin, J., and Townsend, A.R., *The hemochromatosis protein HFE inhibits iron export from macrophages.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. **99**(24): 15602-7.

139. Montosi, G., Paglia, P., Garuti, C., Guzman, C.A., Bastin, J.M., Colombo, M.P., and Pietrangelo, A., *Wild-type HFE protein normalizes transferrin iron accumulation in macrophages from subjects with hereditary hemochromatosis.* Blood, 2000. **96**(3): 1125-9.

140. Bahram, S., Gilfillan, S., Kuhn, L.C., Moret, R., Schulze, J.B., Lebeau, A., and Schumann, K., *Experimental hemochromatosis due to MHC class I HFE deficiency: immune status and iron metabolism.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. **96**(23): 13312-7.

141. Feo, F., De Miglio, M.R., Simile, M.M., Muroni, M.R., Calvisi, D.F., Frau, M., and Pascale, R.M., *Hepatocellular carcinoma as a complex polygenic disease. Interpretive analysis of recent developments on genetic predisposition.* Biochim Biophys Acta, 2006. **1765**(2): 126-47.

142. Testa, U., Pelosi, E., and Peschle, C., *The transferrin receptor.* Crit Rev Oncol, 1993. **4**: 241-76.

143. Trowbridge, I.S., Newman, R.A., Domingo, D.L., and Sauvage, C., *Transferrin receptors: structure and function.* Biochem Pharmacol, 1984. **33**: 925-32.

144. Baynes, E.D., Skikne, B.S., and Cook, J.D., *Circulating transferrin receptor and assessment of iron status.* J Nutr Biochem, 1994. **5**: 322-30.

145. May, W.S., and Cuatrecasas, P., *Transferrin receptor: its biological significance.* J Membrane Biol, 1985. **88**: 205-15.

146. Vernet M. Le récepteur de la transferrine: rôle dans le métabolisme du fer et intérêt en biologie clinique. Ann Biol Clin 1999; 57: 9-17.

147. Lok, C.N., and Loh, T.T., *Regulation of transferrin function and expression: review and update.* Biol Signals Recept, 1998. **7**: 157-78.

148. Lacopetta, B.J., Morgan, E.H., and Yeah, G.C.T., *Transferrin receptors and iron uptake during erythroid cell development.* Bioch Biophys Acta, 1982. **687**: 204-10.

149. Huebers, H.A., and Finch, C.A., *The physiology of transferrin and transferrin receptors*. Physiol Rev, 1987. **67**: 520-82.

150. Thorstensen, K., and Romslo, I., *The role of transferrin in the mechanism of cellular iron uptake.* Biochem J, 1990. **271**: 1-10.

151. Ponka, P., Beaumont, C., and Richardson, D.R., *Function and regulation of transferrin and ferritin.* Sem Hematol, 1998. **35**: 35-54.

152. Feder, J.N., Penny, D.M., Irrinki, A., *et al. The hemochromatosis gene product complexes with the transferrin receptor and lowers its affinity for ligand binding.* Proc Natl Acad Sci USA, 1998. **95**: 1472-7.

153. Hentze, M.W., and Kuhn, L.C., *Molecular control of vertebrate iron metabolism: mRNA-based regulatory circuits operated by iron, nitric oxide, and oxidative stress.* Proc Natl Acad Sci USA, 1996. **93**: 8175-82.

154. Addess, K.J., Basilion, J.P., Klausner, R.D., Rouault, T.A., and Pardi, A., *Structure and dynamics of the iron responsive element RNA: implications for binding of the RNA by iron regulatory binding proteins*. J Mol Biol, 1997. **274**: 72-83.

155. Kohgo, Y., Nishisato, T., Kondo, H., Tsushima, N., Niitsu, Y., and Urushizaki, I., *Circulating transferrin receptor in human serum.* Br J Haematol, 1986. **64**: 277-81.

156. Boldt, D. H., *New perspectives on iron: an introduction.* Am J Med Sci, 1999. **318**: 207-12.

157. Ouyang, Q., Bommakanti, M., and Miskimins, W.K., *A mitogen-responsive promoter region that is synergistically activated through multiple signalling pathways.* Mol Cell Biol, 1993. **13**(3): 1796 804.

158. Kawabata, H., Yang, R., Hirama, T., Vuong, P.T., Kawano, S., Gombart, A.F., and Koeffler, H.P., *Molecular cloning of transferrin receptor 2. A new member of the transferrin receptor-like family.* J Biol Chem, 1999. **274**(30): 20826-32.

159. Kawabata, H., Nakamaki, T., Ikonomi, P., Smith, R.D., Germain, R.S., and Koeffler, H.P., *Expression of transferrin receptor 2 in normal and neoplastic hematopoietic cells.* Blood, 2001. **98**(9): 2714-9.

160. Camaschella, C., Roetto, A., Cali, A., De Gobbi, M., Garozzo, G., Carella, M., Majorano, N., Totaro, A., and Gasparini, P., *The gene TFR2 is mutated in a new type of haemochromatosis mapping to 7q22.* Nat Genet, 2000. **25**(1): 14-5.

161. Kawabata, H., Fleming, R.E., Gui, D., Moon, S.Y., Saitoh, T., O'Kelly, J., Umehara, Y., Wano, Y., Said, J.W., and Koeffler, H.P., *Expression of hepcidin is down-regulated in TfR2 mutant mice manifesting a phenotype of hereditary hemochromatosis.* Blood, 2005. **105**(1): 376-81.

162. Shih, Y.J., Baynes, R.D., Hudson, B.G., and Cook, J.D., *Characterization and quantitation of the circulating forms of serum transferrin receptor using domain-specific antibodies.* Blood, 1993. **81**(1): 234-8.

163. Rutledge, E.A., and Enns, C.A., *Cleavage of the transferrin receptor is influenced by the composition of the O-linked carbohydrate at position 104.* J Cell Biol, 1996. **168**: 284-93.

164. Rutledge, E.A., Gaston, I., Root, B.J., McGraw, T.E., and Enns, C.A., *The transferrin receptor cytoplasmic domain determines its rate of transport through the biosynthetic pathway and its susceptibility to cleavage early in the pathway.* J Biol Chem, 1998. **273**(20) : 11269-75.

165. Beguin, Y., Loo, M., and Fillet, G., *Le dosage du récepteur circulant de la transferrine : une nouveauté pour quantifier l'érythropoïèse*. Med Hyg, 1991. **49**: 2041-5

166. Cooper, M.J., and Zlotkin, S.H., *Day-to-day variation of transferrin receptor and ferritin in healthy men and women.* Am J Clin Nutr, 1996. **64**: 738-42.

167. Suominen, P., Punnonen, K., Rajamäki, A., and Irjala, K., *Evaluation of new immunoenzymometric assay for measuring soluble transferrin receptor to detect iron deficiency in anemic patients.* Clin Chem, 1997. **43**: 1641-46.

168. Allen, J., Backstrom, K.R., Cooper, J.A., et al. *Measurement of soluble transferrin receptor in serum of healthy adults.* Clin Chem, 1998. **44**(1): 35-9.

169. Ahluwalia, N., *Diagnostic utility of serum transferrin receptors measurement in assessing iron status.* Nutr Rev, 1998. **56**: 133-41.

170. Maes, M., Bosmans, E., Scharpé, S., et al. *Components of biological variation in serum soluble transferrin receptor: relationships to serum iron, transferrin and ferritin concentrations, and immune and haematological variables.* Scand J Clin Lab Invest, 1997. **57**: 31-41.

171. Kuiper-Kramer, E.P.A., Baerts, W., Bakker, R., Van Eyck, J., Van Raan, J., and Van Eijk, H.G., *Evaluation of the iron status of the newborn by soluble transferrin receptors in serum.* Clin Chem Lab Med, 1998. **36**: 17-21.

172. Worwood, M., *Serum transferrin receptor assays and their application.* Ann Clin Biochem, 2002. **39**: 221-30.

173. Flowers, C.H., Skikne, B.S., Covell, A.M., and Cook, J.D., *The clinical measurement of serum transferrin receptor.* J Lab Clin Med, 1989. **114**: 368-77.

174. Huebers, H.A., Beguin, Y., Pootrakul , P., Einspahr, D., and Finch, C.A., *Intact transferrin receptors in human plasma and their relation to erythropoïesis.* Blood, 1990. **75**(1): 102-7.

175. Carmel, R., and Skikne, B.S., *Serum transferrin receptor in the megaloblastic anemia of cobalamin deficiency.* Eur J Haematol, 1992. **49**: 246-50.

176. Feelders, R.A., Kuiper-Kramer, E.P., and van Eijk, H.G., *Structure, function and clinical significance of transferrin receptors.* Clin Chem Lab Med, 1999. **37**: 1-10.

177. Beguin, Y., Loo, M., R'Zik, S., Sautois, B., Lejeune, F., Rorive, G., and Fillet, G., *Early prediction of response to recombinant human erythropoietin in patients with the anemia of renal failure by serum transferrin receptor and fibrinogen.* Blood, 1993. **82**(7): 2010-6.

178. Skikne, B.S., Flowers, C.H., and Cook, J.D., *Serum transferrin receptor: a quantitative measure of tissue iron deficiency.* Blood, 1990. **75**(9): 1870-6.

179. Cook, J.D., Skikne, B.S., and Baynes, R.D., *Serum transferrin receptor*. Annu Rev Med, 1993. **44**: 63-74.

180. Ferguson, B.J., Skikne, B.S., Simpson, K.M., Baynes, R.D., and Cook, J.D., *Serum transferrin receptor distinguishes the anemia of chronic disease from iron deficiency anemia.* J Lab Clin Med, 1992. **119**: 385-90

181. Punnonen, K., Irjala, K., and Rajamaki, A., *Iron-deficiency anemia is associated with high concentrations of transferrin receptor in serum.* Clin Chem, 1994. **40**(5): 774-6.

182. Punnonen, K., Irjala, K., and Rajamaki, A., *Serum transferrin receptor and its ratio to serum ferritin in the diagnosis of iron deficiency*. Blood, 1997. **89**(3): 1052-7.

183. Petterson, T., Kivivuori, S.M., and Siimes, M.A., *Is serum transferrin receptor useful for detecting iron-deficiency in anaemic patients with chronic inflammatory diseases?.* Br J Rheumatol, 1994. **33**: 740-4.

184. Mast, A.E., Blinder, M.A., Gronowski, A.M., Chumley, C., and Scott, M.G., *Clinical utility of the soluble transferrin receptor and comparison with serum ferritin in several populations.* Clin Chem, 1998. **44**(1): 45-51.

185. Hirling, H., Henderson, B.R., and Kuhn, L.C., *Mutational analysis of the [4Fe-4S]-cluster converting iron regulatory factor from its RNA-binding form to cytoplasmic aconitase*. Embo J, 1994. **13**(2): 453-61.

186. Iwai, K., Drake, S.K., Wehr, N.B., Weissman, A.M., LaVaute, T., Minato, N., Klausner, R.D., Levine, R.L., and Rouault, T.A., *Iron-dependent oxidation, ubiquitination, and degradation of iron regulatory protein 2: implications for degradation of oxidized proteins.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(9): 4924-8.

187. Hanson, E.S. and Leibold, E.A., *Regulation of iron regulatory protein 1 during hypoxia and hypoxia/reoxygenation.* J Biol Chem, 1998. **273**(13): 7588-93.

188. Wang, J., Chen, G., and Pantopoulos, K., *Nitric oxide inhibits the degradation of IRP2.* Mol Cell Biol, 2005. **25**(4): 1347-53.

189. Finch, C., *Regulators of iron balance in humans.* Blood, 1994. **84**(6): 1697-702.

190. Roy, C.N. and Enns, C.A., *Iron homeostasis: new tales from the crypt.* Blood, 2000. **96**(13): 4020-7.

191. Trinder, D., Olynyk, J.K., Sly, W.S., and Morgan, E.H., *Iron uptake from plasma transferrin by the duodenum is impaired in the Hfe knockout mouse.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. **99**(8): 5622-6.

192. Kelleher, T., Ryan, E., Barrett, S., Sweeney, M., Byrnes, V., O'Keane, C., and Crowe, J., *Increased DMT1 but not IREG1 or HFE mRNA following iron depletion therapy in hereditary haemochromatosis.* Gut, 2004. **53**(8): 1174-9.

193. Frazer, D.M. and Anderson, G.J., *The orchestration of body iron intake: how and where do enterocytes receive their cues?* Blood Cells Mol Dis, 2003. **30**(3): 288-97.

194. Beyne-Rauzy, O., *Anémie inflammatoire : physiopathologie et prise en charge.* La Revue de médecine interne, 2009. **30** : 311–314

195. Herklotz, R., et Huber, A., *Diagnostic de laboratoire des troubles du métabolisme du fer.Forum* Med Suisse, 2010. **10**(30-31): 500-7.

196. R'zik, S., and Beguin, Y., *Serum soluble transferrin receptor concentration is an accurate estimate of the mass tissue receptors.* Exp Hematol, 2001. **29**: 677-685.

197. Balan, V., Baldus, W., Fairbanks, V., Michels, V., Burritt, M., and Klee, G., *Screening for hemochromatosis: a cost-eff ectiveness study based on 12 258 patients.* Gastroenterology, 1994. 107: 453-459.

198. Vernet, M., Corberand, J., David, V., Deugnier, Y., Frey, J., Giraudet, P., Renversez, J., C., et Sebahoun, G., *Algorithmes de prescription recommandés pour le diagnostic d'un déficit et d'une surcharge en fer.* Ann Biol Clin, 2001. **59**: 149-155.

199. Kariger, P.K., Stoltzfus, R.J., Olney, D., Sazawal, S., Blanck, R., Tielsch, J.M., Frongillo, E.A., Khalfan, S.S., and Pollitt, E., *Iron deficiency and physical growth predict attainment of walking but not crawling in poorly nourished Zanzibari infants*. J Nutr, 2005. **135**: 814-819.

200. Cook, J., D., Flowers, C., H., and Skikne, B., S., *The quantitative assessment of body iron*. Blood, 2003. **101**: 3359-3364.

201. Lee, E., J., Oh, E., J., Park, Y., J., Lee, H., K., and Kim, B., K., *Soluble transferrin receptor (sTfR), ferritin, and sTfR/ Log ferritin index in anemic patients with nonhematologic malignancy and chronic infl ammation.* Clin Chem, 2002. **48**: 1118-221.

202. Weiss, G., and Goodnough, L.T., *Anemia of chronic disease*. N Engl J Med, 2005. **352**: 1011–23.

Annexes

Annexe 1: fiche de renseignements clinique et interrogatoire du malade

Fiche de renseignements cliniques

I. informations personnelles

Nom :……………………………………….

Prénom :……………………………………

Adresse :……………………………………

N° tél :………………………………………

Sexe :………………………………………

Age :………………………………………..

Service :……………………………………

Dossier n° :…………..Code :...................…

II. Enquête étiologique

Profession ……………………………………...

Médication suivie :……………………………

Transfusion : …………………………………..

Date de la dernière transfusion :…/…. / 2010

Prise de médicaments……………………………

Durée du traitement……………………………..…

Nombre de fois………..………………………..

Ménopause………………………………………..

IV. Clinique

1. Signes généraux

- pâleur cutanéo-muqueuse ☐
- asthénie ☐

2. Conséquences de l'hypoxémie

- Dyspnée ☐
- Tachycardie ☐
- angor d'effort voire IDM ☐
- claudication intermittente ☐

3.Signes neurologiques (par hypoxémie)

- Céphalées ☐
- vertiges ☐
- Acouphènes ☐

4. Autres signes associés

-SMG ☐

-Ganglion ☐

Appréciation du type d'anémie recherchée en se basant sur l'état clinique :

Acceptabilité oui ☐ non ☐

IV. Diagnostic biologique

Prélèvement sur sang veineux effectuée à jeun le :……/…… /2010 à…….:……

Type d'anticoagulant	Quantité en ml	Remarques
EDTA		
HEPARINATE DE LITHIUM		

NFS (formule numération sanguine) + bilan martial : effectuée ………h……..min après le prélèvement.



Fe
Fer



● Réactifs utilisables sur les analyseurs Roche/Hitachi suivants :

Réf.	Flacon	Contenu	902	912	917	MODULAR P	MODULAR D
11876996 216	1 2	REAGENT 6 x 64 mL REAGENT 6 x 16 mL			●	●	
11929658 216 **11929666** 216	1 2	REAGENT 6 x 258 mL REAGENT 6 x 68 mL				●	●
11970704 216	1 2	REAGENT 12 x 50 mL REAGENT 6 x 20 mL	●	●			
11970747 216 (USA uniquement)	1 2	REAGENT 6 x 100 mL REAGENT 3 x 46 mL		●			

Certains analyseurs ou coffrets peuvent ne pas être disponibles dans tous les pays. Pour l'utilisation sur d'autres analyseurs, veuillez contacter la société Roche Diagnostics de votre pays.

Français

Codes d'application
Pour les analyseurs Roche/Hitachi 912/917/MODULAR P/ MODULAR D : ACN 661

Domaine d'utilisation
Test pour la détermination quantitative in vitro du fer dans le sérum et le plasma humains sur les analyseurs de chimie clinique de Roche.

Caractéristiques[1,2,3,4,5]
Le fer apporté par l'alimentation est principalement résorbé sous forme de Fe^{2+} dans le duodénum et le jéjunum proximal. Le fer trivalent et le fer héminique Fe^{3+} d'origine alimentaire qui doit être réduit à l'état ferreux par la vitamine C. Env. 1 mg de fer est absorbé quotidiennement. Les ions Fe^{2+} qui pénètrent dans les cellules muqueuses sont pris en charge par des substances de transport. Avant de passer dans le plasma, ils sont oxydés en Fe^{3+} par la céruléoplasmine ; c'est sous cette forme que le fer est lié à la transferrine. Le transport du fer dans le plasma se fait sous forme de complexe transferrine-fer. Une molécule de transferrine peut transporter au maximum deux ions Fe^{3+}. La quasi-totalité du fer sérique est lié à la transferrine.
Les dosages de fer (non héminique) sont utiles pour le diagnostic et le suivi des anémies ferriprives, des hémochromatoses (maladies dues au dépôt dans les tissus de deux pigments ferrugineux, l'hémosidérine et l'hémofuchsine, et caractérisées par une pigmentation de la peau) ainsi que des maladies rénales chroniques. On effectue des dosages de fer pour le diagnostic et le suivi d'anémies microcytaires (anémies dues à un trouble du métabolisme du fer ou à une hémogobinopathie par ex.), d'anémies macrocytaires (anémies par déficit en vitamine B12 ou en acide folique, anémies dues à un trouble du métabolisme induit par des médicaments ou d'étiologie inconnue par ex.) et d'anémies normocytaires (anémie due à une insuffisance rénale (déficit en érythropoïétine), anémie hémolytique, anémie due à une hémoglobinopathie, une insuffisance médullaire ou des lésions médullaires d'origine toxique par ex.).
De nombreuses méthodes photométriques ont été décrites pour le dosage du fer. Toutes ont en commun les étapes suivantes :
- dissociation des ions Fe^{3+} du complexe transferrine-fer à l'aide d'acides ou de détergents
- réduction des ions Fe^{3+} en ions Fe^{2+}
- réaction des ions Fe^{2+} conduisant à un complexe coloré

La méthode décrite ci-après est une méthode de dosage sans déprotéinisation qui fait appel à la FerroZine.

Principe
Test colorimétrique
- Le réactif R1 est ajouté à l'échantillon.
- Addition de R2 et déclenchement de la réaction :

$$\text{Transferrine-Fe-complexe} \xrightarrow{pH < 2,0} \text{apotransferrine} + Fe^{3+}$$

$$Fe^{3+} \xrightarrow{\text{ascorbate}} Fe^{2+}$$

$$\text{FerroZine} + Fe^{2+} \longrightarrow \text{complexe coloré}$$

A un pH acide, le fer est détaché de la transferrine. Les échantillons lipémiques sont clarifiés par un détergent. L'ascorbate réduit les ions Fe^{3+} en ions Fe^{2+} qui forment ensuite un complexe coloré avec la FerroZine. L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à la concentration en fer et est mesurée par photométrie.

Réactifs - composition et concentrations
R1 Acide citrique : 200 mmol/L ; thiourée : 115 mmol/L ; détergent
R2 Ascorbate de sodium : 150 mmol/L ; FerroZine : 6 mmol/L ; conservateur

Précautions d'emploi et mises en garde
Pour diagnostic *in vitro*
Observer les précautions habituelles de manipulation en laboratoire.
Fiche de sécurité disponible sur demande pour les professionnels.
L'élimination de tous les déchets doit être effectuée conformément aux dispositions légales.
Pour les USA :
Mise en garde : ce réactif contient de la thiourée, substance connue des autorités californiennes comme pouvant provoquer le cancer ou des lésions affectant la reproduction. Elle peut aussi provoquer une irritation de la peau. En cas de contact, rincer abondamment avec de l'eau. En cas de contact avec les yeux ou d'ingestion, consulter immédiatement un médecin.

Préparation des réactifs
R1 : Prêt à l'emploi.
R2 : Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité
Avant ouverture des flacons : entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption indiquée
R1 : 28 jours après ouverture et réfrigéré sur l'analyseur
R2 : 28 jours après ouverture et réfrigéré sur l'analyseur. Protéger de la lumière.

Prélèvement et préparation des échantillons
Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.
Seuls les types d'échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés :
Sérum
Plasma recueilli sur héparinate de lithium, de sodium ou d'ammonium.
Le plasma recueilli sur oxalate ou EDTA conduit à des taux de récupération diminués.

Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test : les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

Stabilité :[6] 7 jours entre 15 et 25 °C
3 semaines entre 2 et 8 °C
plusieurs années entre -15 et -25 °C

Séparer immédiatement le sérum ou le plasma du caillot ou des cellules dans l'heure qui suit le prélèvement.


Fer



Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Matériel fourni
Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Matériel auxiliaire nécessaire
- Calibrateur : C.f.a.s. (Calibrator for automated systems), Réf. 10759350 190, 10759350 360 (pour les USA)
- Contrôles : Precinorm U, par ex. Réf. 10171743 122 ou Precinorm U plus, Réf. 12149435 122, 12149435 160 (pour les USA) Precipath U, par ex., Réf. 10171778 122 ou Precipath U plus, Réf. 12149443 122, 12149443 160 (pour les USA)
- Solution de NaCl 0,9 %
- SMS/Acid Wash ou 0,2 N HCl pour analyseurs Roche/Hitachi (excepté MODULAR D)
- Equipement habituel de laboratoire

Mode opératoire
Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans la présente notice. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.
En cas d'utilisation de tests non validés par Roche, les performances analytiques ne sont pas garanties et doivent être définies par l'utilisateur.

Calibration
Traçabilité : la méthode a été standardisée par rapport à un standard de référence primaire.
S1 : Solution de NaCl 0,9 %
S2 : C.f.a.s. (Calibrator for automated systems)
Fréquence des calibrations
Une calibration en deux points est recommandée :
- en cas de changement de lot de réactif
- si le contrôle de qualité l'exige

Contrôle de qualité
Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans le paragraphe « Matériel auxiliaire nécessaire ». D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés.
La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies.
Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors de ces limites.
Se conformer à la réglementation gouvernementale et aux directives locales en vigueur relatives au contrôle de qualité.

Calcul des résultats
L'analyseur calcule automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon.

Facteurs de conversion : µmol/L x 5,59 = µg/dL
µmol/L x 0,0559 = mg/L
µg/dL x 0,179 = µmol/L
µg/dL x 0,010 = mg/L

Limites d'utilisation - interférences[7]
Critère d'acceptabilité : recouvrement ± 10 % par rapport à la valeur initiale
Ictère : pas d'interférence significative jusqu'à un indice I de 60 (concentrations approximatives de bilirubine conjuguée et non conjuguée : 1026 µmol/L ou 60 mg/dL).
Hémolyse : pas d'interférence significative jusqu'à un indice H de 80 (concentration approximative d'hémoglobine : 50 µmol/L ou 80 mg/dL). Des concentrations en hémoglobine plus élevées conduisent à l'obtention de résultats faussement positifs en raison de la contamination de l'échantillon par le fer lié à l'hémoglobine.
Lipémie (Intralipid) : pas d'interférence significative jusqu'à un indice L de 1000. Il n'y a pas de concordance satisfaisante entre la turbidité et la concentration en triglycérides.
Chez les patients recevant une supplémentation en fer ou des médicaments liant les métaux, le fer contenu dans le médicament peut gêner la réaction et conduire à l'obtention de résultats faussement bas.

Dans de très rares cas, la gammapathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés.
Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

ACTION NÉCESSAIRE
Programmation de séquences de lavages spéciaux : sur les analyseurs Roche/Hitachi, certaines combinaisons de tests exigent la programmation d'étapes de lavage spéciales. Pour de plus amples informations, se référer à la dernière version des listes de prévention des contaminations (Carry over evasion list) ainsi qu'au manuel de l'utilisateur. Pour les USA : pour les étapes de lavage particulières, se référer à la fiche de programmation Special Wash (site web MyLabOnline) et au manuel de l'utilisateur. **Le cas échéant, la programmation des lavages spéciaux/de prévention des contaminations doit être implémentée avant d'effectuer le rapport de ce test.**

Limites et intervalles
Domaine de mesure
0,90-179 µmol/L (5-1000 µg/dL)
Les échantillons dont les concentrations sont supérieures à 1000 µg/dL sont réanalysés par l'analyseur via la fonction Réanalyse. Si l'analyseur ne permet pas de faire des réanalyses, diluer manuellement ces échantillons à l'aide d'une solution de NaCl 0,9 %, d'eau distillée ou désionisée (par ex. dans le rapport 1 + 1). Multiplier le résultat par le facteur de dilution approprié (2 dans l'exemple).
Analyseur Roche/Hitachi 912
Les échantillons ayant des concentrations plus élevées sont automatiquement réanalysés par l'appareil. Le rapport de dilution des échantillons lors de réanalyse automatique est 1/2. Les résultats des échantillons dilués pour la réanalyse sont automatiquement multipliés par le facteur 2.
Analyseurs Roche/Hitachi 917/MODULAR P/MODULAR D
Les échantillons ayant des concentrations plus élevées sont automatiquement réanalysés par l'appareil. Le rapport de dilution des échantillons lors de réanalyse automatique est 1/2,14. Les résultats des échantillons dilués pour la réanalyse sont automatiquement multipliés par le facteur 2,14.
Limites inférieures de mesure
Limite inférieure de détection du test
0,90 µmol/L (5 µg/dL)
La limite inférieure de détection correspond au plus faible taux d'analyte mesurable pouvant être distingué de zéro. Elle est obtenue par le calcul et correspond au plus faible taux de la gamme de standards + 3 écarts-type (standard 1 + 3SD, répétabilité n = 21).

Valeurs de référence
Sérum, plasma[8]
Hommes : 10,6-28,3 µmol/L (59-158 µg/dL)
Femmes : 6,6-26,0 µmol/L (37-145 µg/dL)
La concentration en fer dans le sérum et le plasma dépend de l'alimentation et est sujette à des variations nycthémérales.[9]

Domaines de référence (U.S.A.)[10]
Hommes : 8,1-28,6 µmol/L (45-160 µg/dL)
Femmes : 5,4-28,6 µmol/L (30-160 µg/dL)
Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir au besoin ses propres domaines de référence selon la population examinée.

Performances analytiques
Les performances analytiques indiquées ci-dessous sont représentatives. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision
La précision a été déterminée à l'aide d'échantillons humains et de contrôles selon un protocole interne. Répétabilité* (n = 21), précision intermédiaire** (5 aliquotes par série, 1 série par jour sur 21 jours). Les résultats suivants ont été obtenus :

	Répétabilité*			**Précision intermédiaire****		
Echantillon	Moyenne		CV	Moyenne		CV
	µmol/L	µg/dL	%	µmol/L	µg/dL	%
Sérum humain	9,31	52	1,2	8,23	46	1,8
Precinorm U	16,1	90	0,9	16,6	93	1,1
Precipath U	23,6	132	0,8	24,7	138	0,6

12175711001V7

Transferrin ver.2



Tina-quant ⓐ Transferrine version 2

● **Réactifs utilisables sur les analyseurs Roche/Hitachi suivants :**

Réf.	Flacon	Contenu	902	904	911 912	917	MODULAR P	MODULAR D
03015084 122	**1** **2**	REAGENT 6 x 18 mL REAGENT 6 x 8 mL	●	●	●	●	●	
03015114 122	**1** **2**	REAGENT 6 x 50 mL REAGENT 6 x 19 mL				●	●	
04580524 190	**1** **2**	REAGENT 4 x 250 mL REAGENT 4 x 102 mL					●	●

Les analyseurs et les coffrets ne sont pas tous disponibles dans tous les pays. Pour l'utilisation sur d'autres analyseurs, veuillez contacter la société Roche Diagnostics de votre pays.

Français

Codes d'application

Pour les analyseurs Roche/Hitachi 904/911/912/917/MODULAR P : ACN 187
Pour les analyseurs Roche/Hitachi MODULAR P[a]/MODULAR D : ACN 231
a) Sauf aux U.S.A.

Domaine d'utilisation

Test immunoturbidimétrique pour la détermination quantitative *in vitro* de la transferrine dans le sérum et le plasma humains sur les automates de chimie clinique de Roche.

Caractéristiques[1,2,3,4,5]

La transferrine est une glycoprotéine d'un poids moléculaire de 79 570 daltons. Elle est constituée d'une chaîne polypeptidique à laquelle sont liées, par des liaisons N-glucosidiques, deux chaînes d'oligosaccharides. Il existe de nombreuses isoformes. La vitesse de synthèse de la transferrine dans le foie peut être modifiée en fonction des besoins et des réserves en fer de l'organisme.
La transferrine est la protéine de transport du fer dans le sérum. En cas de déficit en fer, le degré de saturation de la transferrine semble être un indicateur extrêmement sensible d'un appauvrissement fonctionnel en fer. Le taux de ferritine est diminué en cas de diminution des réserves de fer. En cas d'hyposidérémie, un déficit en fer peut être exclu si le taux sérique de transferrine est abaissé, comme c'est le cas dans les inflammations ou, plus rarement, lors de déficit en acide ascorbique. Pour le dépistage d'une hémochromatose héréditaire le degré de saturation de la transferrine apporte plus d'informations sur le génotype homozygote que la ferritine.
Le traitement d'une anémie par de l'érythropoïétine chez des patients atteints d'insuffisance rénale n'est efficace que si les réserves de fer dans l'organisme sont suffisantes. Le meilleur moyen de contrôle est la détermination du coefficient de saturation de la transferrine au cours du traitement. Associée au dosage de la ferritine, la détermination du coefficient de saturation de la transferrine permet d'apprécier la surcharge en fer chez les patients atteints d'affections hépatiques chroniques.
Il existe différentes méthodes de dosage de la transferrine comme la néphélométrie, l'immunodiffusion radiale et la turbidimétrie. Le test Transferrine de Roche repose sur le principe d'agglutination immunologique.

Principe[6,7,8]

Test immunoturbidimétrique

- Le réactif R1 (tampon) est ajouté à l'échantillon.
- Addition de R2 (anticorps anti-transferrine/NaCl) et déclenchement de la réaction :

Les anticorps anti-transferrine réagissent avec l'antigène de l'échantillon avec formation de complexes antigènes-anticorps. L'agglutination qui en résulte est mesurée par turbidimétrie. L'addition de polyéthylèneglycol (PEG) permet d'atteindre rapidement le point final et augmente la sensibilité.

Réactifs - composition et concentrations

R1 Tampon phosphate : 55 mmol/L, pH 7,2 ; NaCl : 25 mmol/L ; polyéthylèneglycol : 5% ; conservateur
R2 Anticorps (de lapin) anti-transferrine humaine : dépend du titre de l'antisérum ; chlorure de sodium : 100 mmol/L ; conservateur

Précautions d'emploi et mises en garde

Pour diagnostic *in vitro*
Observer les précautions habituelles de manipulation en laboratoire.
Fiche de sécurité disponible sur demande pour les professionnels.
L'élimination de tous les déchets doit être effectuée conformément aux dispositions légales.

Préparation des réactifs

R1 : Prêt à l'emploi.
R2 : Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité

Avant ouverture des flacons : entre 2 et 8°C, jusqu'à la date de péremption indiquée
R1 : 84 jours après ouverture et réfrigérés sur l'analyseur
R2 : 84 jours après ouverture et réfrigérés sur l'analyseur

Prélèvement et préparation des échantillons

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.
Seuls les types d'échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés.
Sérum
Plasma : recueilli sur héparinate de lithium, de sodium et d'ammonium.
Ne pas utiliser de plasma recueilli sur EDTA ou citrate.
Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test : les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.
Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Stabilité :[9] 8 jours entre 15 et 25°C
8 jours entre 2 et 8°C
6 mois entre -15 et -25°C

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Matériel auxiliaire nécessaire

- Calibrateurs : C.f.a.s. (Calibrator for automated systems) Proteins, Réf. 11355279 (USA # 1355279)
  Preciset Serum proteins, Réf. 11876406 (USA # 1876406)
- Contrôles : Precinorm Protein, Réf. 10557897 (USA # 557897)
  Precipath Protein, Réf. 11333127 (USA # 1333127)
- Solution de NaCl 0,9%
- Equipement habituel de laboratoire

Mode opératoire

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans la présente notice. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.
Veuillez noter que deux applications sont disponibles pour l'analyseur MODULAR P, l'une utilisant le calibrateur C.f.a.s. Proteins (ACN 187) et l'autre utilisant le calibrateur Preciset Serum proteins (ACN 231).
Pour les configurations MODULAR PD, il est recommandé d'utiliser l'application ACN 231 sur l'analyseur MODULAR P.
L'application ACN 231 pour l'analyseur MODULAR P n'est pas disponible aux USA.

Transferrin ver.2



Tina-quant ⓐ Transferrine version 2

En cas d'utilisation de tests non validés par Roche, les performances analytiques ne sont pas garanties et doivent être définies par l'utilisateur.

Calibration
Traçabilité : la méthode a été standardisée par rapport à la préparation de référence CRM 470 (RPPHS)[10].

Analyseurs Roche/Hitachi 902/MODULAR P (ACN 231)/MODULAR D
S1 : Solution de NaCl 0,9%
S2-6 : Preciset Serum proteins

Analyseurs Roche/Hitachi 904/911/912/917/MODULAR P (ACN 187)
S1 : Solution de NaCl 0,9%
S2-6 : C.f.a.s. Proteins
Facteurs multiplicateurs de la valeur théorique du C.f.a.s. Proteins pour le calcul des concentrations des standards de la courbe de calibration (calibration en 6 points) :

S2 : 0,125 S5 : 1,000
S3 : 0,250 S6 : 2,000
S4 : 0,500

Fréquence des calibrations :
Une calibration complète est recommandée :
- en cas de changement de lot de réactif
- si le contrôle de qualité le rend nécessaire

Contrôle de qualité
Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans le paragraphe « Matériel auxiliaire nécessaire ». D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés. La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies. Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors de ces limites.

Calcul des résultats
L'analyseur calcule automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon.

Facteurs de conversion : mg/dL x 0,01 = g/L mg/dL x 0,126 = µmol/L
g/L x 100 = mg/dL µmol/L x 7,96 = mg/dL

Limites d'utilisation - interférences
Critère d'acceptabilité : recouvrement ± 10% par rapport à la valeur initiale.
Ictère : pas d'interférence significative jusqu'à un indice I de 60 (concentrations approximatives en bilirubine conjuguée et non conjuguée : 60 mg/dL ou 1026 µmol/L).
Hémolyse : pas d'interférence significative jusqu'à un indice H de 1000 (concentration approximative d'hémoglobine : 1 000 mg/dL ou 621 µmol/L).
Lipémie (Intralipid) : pas d'interférence significative jusqu'à un indice L de 500. Il n'y a pas de concordance satisfaisante entre la turbidité et la concentration en triglycérides.
Le facteur rhumatoïde ne gêne pas jusqu'à 1200 UI/mL.
Dans de très rares cas, la gammapathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés.
Il n'y a pas d'effet crochet jusqu'à 214 µmol de transferrine/L (17 g/L ou 1700 mg/dL).
L'infuence de 18 médicaments fréquemment administrés a été testée *in vitro* : aucune interférence n'a été observée.
Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

Domaine de mesure
Analyseur Roche/Hitachi 902
Domaine de mesure : 1,26-63,0 µmol/L (0,1-5,0 g/L ou 10-500 mg/dL)*
En cas de concentrations plus élevées, diluer les échantillons manuellement dans le rapport 1 + 1 à l'aide de solution physiologique de chlorure de sodium. Multiplier le résultat par le facteur de dilution approprié (2 dans l'exemple).

Analyseurs Roche/Hitachi MODULAR D/MODULAR P (ACN 231)
Domaine de mesure : 1,26-63,0 µmol/L (0,1-5,0 g/L ou 10-500 mg/dL)*
Domaine de mesure plus étendu en cas de réanalyse :
Analyseur Roche/Hitachi MODULAR D : 1,26-94,5 µmol/L (0,1-7,50 g/L ou 10-750 mg/dL)*
Analyseur MODULAR P (ACN 231) : 1,26-126 µmol/L (0,1-10,0 g/L ou 10-1000 mg/dL)**

Analyseurs Roche/Hitachi 904/911/912/917/MODULAR P (ACN 187)
Domaine de mesure : 1,26-65,5 µmol/L (0,1-5,2 g/L ou 10-520 mg/dL)*
Domaine de mesure plus étendu en cas de réanalyse : 1,26-131 µmol/L (0,1-10,4 g/L ou 10-1040 mg/dL)**

* La limite supérieure du domaine de mesure dépend de la concentration la plus élevée de la gamme de standards.
** La limite supérieure du domaine de mesure est une valeur approximative et dépend de la valeur, obtenue par le calcul, de la concentration la plus élevée de la gamme de standards.

Valeurs de référence[11]
25,2-45,4 µmol/L (2,0-3,6 g/L ou 200-360 mg/dL)
Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir au besoin ses propres domaines de référence selon la population examinée.

Performances analytiques
Les performances analytiques indiquées ci-dessous sont représentatives. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision
La reproductibilité a été déterminée à l'aide d'échantillons humains et de contrôles selon un protocole interne (précision intra-série n = 21, inter-série n = 30). Les résultats suivants ont été obtenus :

	Précision intra-série			Précision inter-série		
Echantillon	Moyenne		CV	Moyenne		CV
	g/L	µmol/L	%	g/L	µmol/L	%
Pool de sérum humain 1	1,36	17,1	1,0	1,60	20,2	0,0
Pool de sérum humain 2	3,59	45,2	2,7	3,38	42,6	1,4
Contrôle taux 1	2,90	36,5	2,1	2,88	36,3	1,7
Contrôle taux 2	4,31	54,3	1,0	4,35	54,8	1,4

Sensibilité analytique (limite inférieure de détection)
< 0,1 g/L (10 mg/dL ou 1,26 µmol/L)
La limite de détection correspond au plus faible taux d'analyte mesurable pouvant être distingué de zéro. Elle est obtenue par le calcul et correspond au plus faible taux de la gamme de standards + 3 écarts-type (standard 1 + 3DS, précision intra-série, n = 21).

Comparaison de méthodes
Les taux de transferrine déterminés sur du sérum humain avec le test Roche Tina-quant ⓐ Transferrine version 2 sur un analyseur Roche/Hitachi 917 (y) ont été comparés :
(a) avec les taux obtenus (x) avec le test Tina-quant ⓐ (1[ère] version) sur le même analyseur,
(b) avec les taux obtenus (x) avec le test Tina-quant ⓐ Transferrine version 2 sur l'analyseur Roche/Hitachi 911,
(c) avec les taux obtenus (x) avec les réactifs d'un autre fabricant (détermination néphélométrique).
Les corrélations suivantes ont été établies (en g/L) :

(a) Passing/Bablok[12]: y = 0,97 x + 0,01; τ = 0,937; n = 75
Régression linéaire: y = 0,92 x + 0,11; r = 0,990

(b) Passing/Bablok[12]: y = 1,00 x - 0,02; τ = 0,942; n = 75
Régression linéaire: y = 0,97 x + 0,05; r = 0,994

(c) Passing/Bablok[12]: y = 1,05 x + 0,01; τ = 0,855; n = 54
Régression linéaire: y = 1,03 x + 0,05; r = 0,964

Les concentrations des échantillons étaient situées entre 4,54 et 56,2 µmol/L (0,36 et 4,46 g/L ou 36 et 446 mg/dL)



Ferritin

Tina-quant ⓐ Ferritine



● **Réactifs utilisables sur les analyseurs Roche/Hitachi suivants :**

Réf.	Flacon	Contenu	902	912	917	MODULAR P	MODULAR D
11661400 216	**1** **2**	REAGENT 4 x 16 mL REAGENT 4 x 16 mL	●	●	●	●	

Certains analyseurs ou coffrets peuvent ne pas être disponibles dans tous les pays. Pour l'utilisation sur d'autres analyseurs, veuillez contacter la société Roche Diagnostics de votre pays.

Français

Codes d'application
Pour les analyseurs Roche/Hitachi 902/912/917/MODULAR : ACN 164

Domaine d'utilisation
Test immunoturbidimétrique pour la détermination quantitative *in vitro* de la ferritine dans le sérum et le plasma humains sur les automates de chimie clinique de Roche.

Caractéristiques[1,2,3,4,5,6,7,8,9,10]
La ferritine est la protéine de stockage du fer. Son poids moléculaire est ≥ 440000 daltons (dépend de la teneur en fer). Elle est constituée d'une enveloppe protéique (apoferritine) de 24 sous-unités et d'un noyau renfermant du fer (en moyenne env. 2500 ions Fe^{3+} dans les isoformes basiques). Les différentes isoformes sont toutes formées par l'assemblage de deux types de sous-unités : la sous-unité H (Heavy) acide et la sous-unité L (Light) basique. Les isoferritines basiques ont une fonction de stockage à long terme du fer et prédominent dans le foie, la rate et la moelle osseuse. Les isoferritines acides se rencontrent principalement dans le myocarde, le placenta, les cellules tumorales et, en plus petites quantités, dans les organes de stockage.

Le dosage de la ferritine est avant tout indiqué dans l'exploration du métabolisme martial, le suivi d'un traitement à base de fer, la détermination des réserves de fer dans les groupes à risque ainsi que pour le diagnostic différentiel des anémies. Il permet de déceler les états prélatents et latents de carence martiale ainsi que les états de surcharge martiale. Il est utile pour le diagnostic différentiel entre anémie ferriprive et anémie hypochrome (anémies chroniques liées à une infection ou à une tumeur, anémies sidéroblastiques ou thalassémie).

Le dosage de la ferritine convient particulièrement pour le contrôle des anémies des insuffisants rénaux traités par l'érythropoïétine en cas de troubles de l'utilisation et de la répartition du fer. La ferritine sérique se trouve en équilibre avec les réserves martiales de l'organisme et est de ce fait un indicateur des réserves en fer dans les organes de stockage.

Il existe différentes méthodes de dosage de la ferritine : radio-immunologie (RIA), immuno-enzymologie de type ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), immunofluorimétrie (FIA), immunoluminométrie (LIA), immunonéphélométrie.

Le test de détermination de la ferritine de Roche repose sur l'agglutination de particules de latex sensibilisées par les anticorps spécifiques.

Principe[10]
Test immunoturbidimétrique
- Le réactif R1 est ajouté à l'échantillon.
- Addition de R2 et déclenchement de la réaction :

Les anticorps anti-ferritine liés au latex réagissent avec l'antigène de l'échantillon avec formation de complexes antigènes-anticorps. L'agglutination qui en résulte est mesurée par turbidimétrie.

Réactifs - composition et concentrations
R1 Tampon TRIS[a] : 0,18 mol/L, pH 8,2 ; NaCl : 100 mmol/L ; conservateur
R2 Particules de latex chargées d'anticorps polyclonaux (de lapin) anti-ferritine humaine ; conservateur

a) TRIS = Tris(hydroxyméthyl) aminométhane

Précautions d'emploi et mises en garde
Pour diagnostic *in vitro*
Observer les précautions habituelles de manipulation en laboratoire.
Fiche de sécurité disponible sur demande pour les professionnels.
L'élimination de tous les déchets doit être effectuée conformément aux dispositions légales.

Préparation des réactifs
R1 : Prêt à l'emploi.
R2 : Prêt à l'emploi. **Bien mélanger le réactif de déclenchement de la réaction avant de le placer sur l'analyseur et ainsi de suite tous les 3 jours.**

Conservation et stabilité
Avant ouverture des flacons : entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption indiquée
R1 : 90 jours après ouverture et réfrigéré sur l'analyseur
R2 : 90 jours après ouverture et réfrigéré sur l'analyseur

Prélèvement et préparation des échantillons
Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.
Seuls les types d'échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés :
Sérum
Plasma : recueilli sur héparinate de lithium, citrate ou EDTA
Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test : les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.
Ne pas utiliser de sang recueilli dans des tubes capillaires pour le dosage.
Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Stabilité :[11] 7 jours entre 15 et 25 °C
7 jours entre 2 et 8 °C
1 an entre -15 et -25°C

Matériel fourni
Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Matériel auxiliaire nécessaire
- Calibrateur : C.f.a.s. (Calibrator for automated systems) Proteins, Réf. 11355279 216, 11355279 160 (pour les USA)
- Contrôles :
  Precinorm Protein, Réf. 10557897 122, 10557897 160 (pour les USA)
  Precipath Protein, Réf. 11333127 122, 11333127 160 (pour les USA)
- Solution de NaCl 0,9 %
- Equipement habituel de laboratoire

Mode opératoire
Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans la présente notice. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.
En cas d'utilisation de tests non validés par Roche, les performances analytiques ne sont pas garanties et doivent être définies par l'utilisateur.





Calibration
Traçabilité : la méthode a été standardisée par rapport à une procédure sélectionnée par un fabricant (méthode immunologique).

Analyseur Roche/Hitachi 902
S1 : Solution de NaCl 0,9 %
S2-6 : C.f.a.s. Proteins
Pour les applications mentionnées ci-dessus, le calibrateur C.f.a.s. Proteins doit être dilué manuellement comme suit :

Calibrateur	C.f.a.s. Proteins	Solution de NaCl 0,9 %	Rapport de dilution
S1	—	1000 µL	—
S2	50 µL	2450 µL	1 : 50
S3	100 µL	900 µL	1 : 10
S4	100 µL	400 µL	1 : 5
S5	200 µL	450 µL	1 : 3,25
S6	300 µL	300 µL	1 : 2

Pour calculer les concentrations des standards de la courbe de calibration (calibration en six points), multiplier les valeurs théoriques du C.f.a.s. Proteins par les facteurs multiplicateurs indiqués ci-dessous.

S2 : 0,01998 S5 : 0,30770
S3 : 0,10000 S6 : 0,50000
S4 : 0,19980

Analyseurs Roche/Hitachi 912/917/MODULAR P
S1 : Solution de NaCl 0,9 %
S2-6 : C.f.a.s. Proteins
Pour calculer les concentrations des standards de la courbe de calibration (calibration en six points), multiplier les valeurs théoriques du C.f.a.s. Proteins par les facteurs multiplicateurs indiqués ci-dessous.

S2 : 0,0125 S5 : 0,25
S3 : 0,025 S6 : 1,00
S4 : 0,050

Fréquence des calibrations :
Une calibration complète est recommandée :
- en cas de changement de lot de réactif
- si le contrôle de qualité l'exige

Contrôle de qualité
Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans le paragraphe « Matériel auxiliaire nécessaire ». D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés. La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies. Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors de ces limites.
Se conformer à la réglementation gouvernementale et aux directives locales en vigueur relatives au contrôle de qualité.

Calcul des résultats
L'analyseur calcule automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon.

Facteurs de conversion :[12] ng/mL = µg/L
ng/mL x 2,247 = pmol/L
mmol/L x 445000 = ng/mL

Limites d'utilisation - interférences[13]
Critère d'acceptabilité : recouvrement ± 10 % par rapport à la valeur initiale

Ictère : pas d'interférence significative jusqu'à un indice I de 60 (concentrations approximatives de bilirubine conjuguée et non conjuguée : 60 mg/dL ou 1026 µmol/L).

Hémolyse : pas d'interférence significative jusqu'à un indice H de 500 (concentration approximative d'hémoglobine : 500 mg/dL ou 310 µmol/L).

Lipémie (Intralipid) : pas d'interférence significative jusqu'à un indice L de 750. Il n'y a pas de concordance satisfaisante entre la turbidité et la concentration en triglycérides.

Le facteur rhumatoïde ne gêne pas jusqu'à 100 UI/mL.

On a observé un effet crochet à des concentrations de ferritine supérieures à 1750 ng/mL (3932 pmol/L) sur l'anaylseur Roche/Hitachi 902 ou à 20000 ng/mL (44940 pmol/L) sur les analyseurs Roche/Hitachi 912/917/MODULAR P.

Dans de très rares cas, la gammapathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés.

Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

ACTION NÉCESSAIRE
Programmation de séquences de lavages spéciaux : sur les analyseurs Roche/Hitachi, certaines combinaisons de tests exigent la programmation d'étapes de lavage spéciales. Pour de plus amples informations, se référer à la dernière version des listes de prévention des contaminations (Carry over evasion list) ainsi qu'au manuel de l'utilisateur. Pour les USA : pour les étapes de lavage particulières, se référer à la fiche de programmation Special Wash (site web MyLabOnline) et au manuel de l'utilisateur.
Le cas échéant, la programmation des lavages spéciaux/de prévention des contaminations doit être implémentée avant d'effectuer le rapport de ce test.

Limites et intervalles
Domaine de mesure
Analyseur Roche/Hitachi 902
Domaine de mesure : 5–400 ng/mL (11,2–899 pmol/L)[b]
Diluer les échantillons dont les concentrations en ferritine sont > 400 ng/mL (899 pmol/L) manuellement dans le rapport 1 + 1 à l'aide d'une solution de NaCl 0,9 %. Multiplier le résultat par 2.
Si l'on doit s'attendre à des concentrations de ferritine élevées (en cas de surcharge martiale, par ex.), diluer l'échantillon manuellement dans le rapport 1 + 3 à l'aide de solution de NaCl 0,9 %. Multiplier le résultat par 4.

Analyseurs Roche/Hitachi 912/917/MODULAR P
Domaine de mesure : 15-800 ng/mL (33,7-1798 pmol/L)[b]
Analyseurs Roche/Hitachi 912/917
Les échantillons ayant des concentrations plus élevées sont automatiquement réanalysés par l'analyseur. Le rapport de dilution des échantillons lors de réanalyse automatique est 1/8. Les résultats des échantillons dilués pour la réanalyse sont automatiquement multipliés par le facteur 8.
Analyseur Roche/Hitachi MODULAR P
Les échantillons ayant des concentrations plus élevées sont automatiquement réanalysés par l'analyseur. Le rapport de dilution des échantillons lors de réanalyse automatique est 1/7,3. Les résultats des échantillons dilués lors de la réanalyse sont automatiquement multipliés par le facteur 7,3.
b) La limite supérieure du domaine de mesure dépend de la concentration la plus élevée de la gamme de standards.

Limites inférieures de mesure
Limite inférieure de détection du test
Analyseur Roche/Hitachi 902
5 ng/mL (11,2 pmol/L)

Analyseurs Roche/Hitachi 912/917/MODULAR P
15 ng/mL (33,7 pmol/L)
Limite de détection en cas de réanalyse : 3 ng/mL (6,7 pmol/L)

La limite inférieure de détection correspond au plus faible taux d'analyte mesurable pouvant être distingué de zéro. Elle est obtenue par le calcul et correspond au plus faible taux de la gamme de standards + 3 écarts-type (standard 1 + 3SD, répétabilité n = 21).

Valeurs de référence[1,14]

Adultes : les valeurs normales pour les concentrations de ferritine de sujets cliniquement sains dépendent fortement de l'âge et du sexe.		
Hommes	30–400 ng/mL	(67-899 pmol/L)
Femmes en dessous de 50 ans	15-150 ng/mL	(34–337 pmol/L)
Femmes au-dessus de 50 ans	Proches des valeurs de référence pour les hommes	
Enfants :		
3 mois - 16 ans	20-200 ng/mL	(45-449 pmol/L)
2e - 3e mois	80-500 ng/mL	(180-1123 pmol/L)
1er mois	150-450 ng/mL	(337-1011 pmol/L)
Sang de cordon ombilical	50-250 ng/mL	(112-562 pmol/L)

12148404001V7



sTfR



Tina-quant ® Récepteur soluble de la transferrine (Rs-TF)

● **Réactifs utilisables sur les analyseurs Roche/Hitachi suivants :**

Réf.	Flacon	Contenu	902	904	911 912	917	MODULAR P	MODULAR D
12148315 122	**1** **2**	REAGENT 2 x 13 mL REAGENT 2 x 13 mL	●	●	●	●	●	

Les analyseurs et les coffrets ne sont pas tous disponibles dans tous les pays. Pour l'utilisation sur d'autres analyseurs, veuillez contacter la société Roche Diagnostics de votre pays.

Français

Codes d'application
Pour les analyseurs Roche/Hitachi 904/911/912/917/MODULAR P : ACN 665

Domaine d'utilisation
Test immunoturbidimétrique pour la détermination quantitative *in vitro* du récepteur soluble de la transferrine dans le sérum et le plasma humains sur les analyseurs de chimie clinique de Roche.

Caractéristiques[1,2,3,4,5,6,7,8]
Le récepteur de la transferrine est une glycoprotéine faisant partie intégrante de la membrane. Son poids moléculaire est de 190 kDa. Il est constitué de deux sous-unités identiques reliées par des ponts disulfures. Chacun de ces monomères comprend un domaine C-terminal de 85 kDa qui peut fixer une molécule de transferrine transportant du fer. La protéolyse conduit à la forme soluble du récepteur de la transferrine (Rs-TF). Dans le plasma, le récepteur soluble de la transferrine se trouve sous forme de complexe avec la transferrine ; le poids moléculaire de ce complexe est d'env. 320 kDa. La concentration sérique de Rs-TF est directement proportionnelle à la concentration du récepteur sur la membrane.
L'acquisition du fer par les cellules de l'organisme est contrôlée par la quantité de récepteurs de la transferrine (R-TF) existant à la surface des cellules. Si les réserves intracellulaires sont épuisées (ce qui correspond à une concentration en ferritine inférieure à 12 µg/L), il y a davantage de R-TF. L'affinité du récepteur de la transferrine pour la transferrine dépend du degré de saturation de ce dernier. Comme 80 à 95% des récepteurs de la transferrine sont localisés sur les précurseurs de la lignée érythrocytaire, la concentration en R-TF (et par conséquent également la concentration en Rs-TF) reflète les besoins en fer de ces cellules. S'il existe un déficit en fer, la concentration en Rs-TF dans le sérum augmente avant même que la concentration en hémoglobine soit significativement abaissée. La concentration en Rs-TF décrit par conséquent le statut en fer fonctionnel, alors que la ferritine reflète les réserves en fer de l'organisme. Une évaluation précise du statut martial peut être obtenue par détermination du rapport Rs-TF/Log de la ferritine.
Comme le taux de Rs-TF n'est, contrairement à celui de la ferritine, pas influencé par la présence de maladies inflammatoires, d'affections hépatiques aiguës et de tumeurs malignes, il permet de différencier entre anémie des maladies chroniques (AMC) et anémie ferriprive (AF). Des taux élevés de Rs-TF se rencontrent également en cas de polyglobulie, d'anémie hémolytique, de thalassémie, d'ictère hémolytique congénital de Minkowski-Chauffard (ou sphérocytose héréditaire), de drépanocytose, d'anémie mégaloblastique, de myélodysplasie et de déficit en vitamine B_{12}.
Des taux élevés de Rs-TF se rencontrent au cours de la grossesse lorsqu'il y a une carence en fer fonctionnel. Les traitements par l'érythropoïétine humaine recombinante (rhEPO) peuvent être suivis par des dosages de Rs-TF.

Paramètre	Modifications	AF	AMC	AF + AMC
Ferritine	réserves de fer	↓	↑	– ou ↑
TIBC/Rs-TF	statut martial	↑	↓	↑ ou –
Fer sérique	statut martial	↓	↓	↓
Rs-TF	fonctionnel carence martiale	↑	–	↑

↓ diminution ↑ augmentation – inchangé

Principe[9]
Test immunoturbidimétrique sur particules de latex
- Addition de R1 (tampon) à l'échantillon.
- Addition de R2 (anticorps anti-Rs-TF fixés sur des particules de latex) et déclenchement de la réaction :

Les anticorps anti-Rs-TF réagissent avec l'antigène de l'échantillon avec formation de complexes antigènes-anticorps. L'agglutination qui en résulte est mesurée par turbidimétrie.

Réactifs - composition et concentrations

R1 Tampon TES[a]/HCl : 20 mmol/L, pH 7,7 ; NaCl : 500 mmol/L ; conservateur

R2 Particules de latex chargées d'anticorps monoclonaux (de souris) anti-Rs-TF humain ; tampon TRIS[b]/HCl : 20 mmol/L, pH 8,0 ; conservateur

a) TES = acide [[(tris(hydroxyméthyl) méthyl] amino]-2 éthanesulfonique
b) TRIS : tris(hydroxyméthyl) aminométhane

Précautions d'emploi et mises en garde
Pour diagnostic *in vitro*
Observer les précautions habituelles de manipulation en laboratoire.
Fiche de sécurité disponible sur demande pour les professionnels.
L'élimination de tous les déchets doit être effectuée conformément aux dispositions légales.

Préparation des réactifs
R1 : Prêt à l'emploi.
R2 : Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité
Avant ouverture des flacons : entre 2 et 8°C jusqu'à la date de péremption indiquée
R1 : 90 jours après ouverture et réfrigérés sur l'analyseur
R2 : 90 jours après ouverture et réfrigérés sur l'analyseur

Prélèvement et préparation des échantillons
Seuls les types d'échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés :
Sérum
Plasma : recueilli sur héparinate de lithium, de sodium et d'ammonium.
Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test : les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test.
En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.
Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Stabilité : 3 jours entre 15 et 25°C
7 jours entre 2 et 8°C
4 semaines entre -15 et -25°C (une seule congélation possible)

Matériel fourni
Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Matériel auxiliaire nécessaire
- Calibrateur : Preciset sTfR, Réf. 12148331
- Contrôles : sTfR Control Set, Réf. 12148340
- Solution de NaCl 0,9%
- Equipement habituel de laboratoire

Mode opératoire
Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans la présente notice. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.
En cas d'utilisation de tests non validés par Roche, les performances analytiques ne sont pas garanties et doivent être définies par l'utilisateur.





Tina-quant ⓐ Récepteur soluble de la transferrine (Rs-TF)

Calibration
Traçabilité : la méthode a été standardisée par rapport à une préparation de référence interne de Roche.
S1 : Solution de NaCl 0,9%
S2-6 : Preciset sTfR

Fréquence des calibrations :
Une calibration complète est recommandée :
- en cas de changement de lot de réactif
- si le contrôle de qualité l'exige

Contrôle de qualité
Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans le paragraphe « Matériel auxiliaire nécessaire ». D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés. La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies. Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors de ces limites.

Calcul des résultats
L'analyseur calcule automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon.

Facteurs de conversion : mg/L x 0,1 = mg/dL
mg/dL x 10 = mg/L
mg/L x 11,8 = nmol/L
nmol/L x 0,085 = mg/L[10]

Limites d'utilisation - interférences
Critère d'acceptabilité : recouvrement ± 10% par rapport à la valeur initiale.
Ictère : pas d'interférence significative par la bilirubine (conjuguée et non conjuguée) jusqu'à env. 60 mg/dL (1026 µmol/L).
Hémolyse : pas d'interférence significative par l'hémoglobine jusqu'à 1000 mg/dL (621 µmol/L).
Lipémie (Intralipid) : pas d'interférence significative jusqu'à 1000 mg/dL.
Le facteur rhumatoïde ne gêne pas jusqu'à 750 UI/mL.
Il n'y a pas d'effet crochet jusqu'à 80 mg de Rs-TF/L (941 nmol/L).
L'infuence de 18 médicaments fréquemment administrés a été testée *in vitro* : aucune interférence n'a été observée.
Dans de très rares cas, la gammapathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés.
Comme dans tous les tests contenant des anticorps monoclonaux de souris, les échantillons de patients ayant reçu des préparations d'anticorps monoclonaux de souris à des fins thérapeutiques ou diagnostiques peuvent donner des résultats erronés.
Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

Domaine de mesure
Domaine de mesure : 0,5-40 mg/L (5,88-470 nmol/L)[c]
Domaine de mesure plus étendu en cas de réanalyse : 0,5-80 mg/L (5,88-941 nmol/L)[c]
c) La limite supérieure du domaine de mesure dépend de la concentration la plus élevée de la gamme de standards.

Valeurs de référence[11]

Hommes (18 à 60 ans) :	2,2-5,0 mg/L (25,9-58,8 nmol/L)	(n = 208)
Femmes (18 à 45 ans) :	1,9-4,4 mg/L (22,4-51,8 nmol/L)	(n = 211)

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir au besoin ses propres domaines de référence selon la population examinée.

Performances analytiques
Les performances analytiques indiquées ci-dessous sont représentatives. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision
La reproductibilité a été déterminée à l'aide d'échantillons humains et de contrôles selon un protocole interne (n = 21). Les résultats suivants ont été obtenus :

	Précision intra-série			Précision inter-série		
Echantillon	Moyenne mg/L (nmol/L)	DS mg/L (nmol/L)	CV %	Moyenne mg/L (nmol/L)	DS mg/L (nmol/L)	CV %
Pool de sérum humain 1	0,62 (7,29)	0,017 (0,2)	2,76	4,77 (56,1)	0,15 (1,76)	3,06
Pool de sérum humain 2	3,02 (35,5)	0,023 (0,271)	0,76	19,42 (228)	1,05 (12,4)	5,39
Pool de sérum humain 3	19,43 (229)	0,121 (1,42)	0,62	-	-	-
Contrôle Niveau 1	2,70 (31,8)	0,022 (0,259)	0,82	2,31 (27,2)	0,05 (0,588)	2,15
Contrôle Niveau 2	6,25 (73,5)	0,029 (0,341)	0,47	7,14 (84)	0,16 (1,88)	2,26

Sensibilité analytique (limite inférieure de détection)
Limite de détection : 0,068 mg/L (0,8 nmol/L)
La limite de détection correspond au plus faible taux d'analyte mesurable pouvant être distingué de zéro. Elle est obtenue par le calcul et correspond au plus faible taux de la gamme de standards + 3 écarts-type (standard 1 + 3DS, précision intra-série, n = 21).

Comparaison de méthodes
Une comparaison du test Tina-quant ⓐ sTfR de Roche sur un analyseur Roche/Hitachi 917 (x) avec un test néphélométrique pour la détermination du Rs-TF (y) a conduit à l'obtention des corrélations suivantes (mg/L) :

Passing/Bablok[12]	Régression linéaire
y = 0,41 x + 0,05	y = 0,37 x + 0,19
	r = 0,991

Nombre d'échantillons analysés : 56
Les concentrations des échantillons étaient situées entre 1,12 et 16,74 mg/L (13,2 et 197 nmol/L).

Une comparaison du test Tina-quant ⓐ sTfR sur les analyseurs Roche/Hitachi 917 (y) et COBAS INTEGRA 400 (x) a conduit à l'obtention des corrélations suivantes (mg/L) :

Passing/Bablok[12]	Régression linéaire
y = 0,99 x + 0,31	y = 0,96 x + 0,43
	r = 0,999

Nombre d'échantillons analysés : 68
Les concentrations des échantillons étaient situées entre 0,31 et 19,86 mg/L (3,65 et 234 nmol/L).

Spécificité analytique/réactions croisées
Les anticorps utilisés sont spécifiques du Rs-TF. Il n'y a pas de réactions croisées avec la transferrine diferrique, l'apotransferrine et la ferritine.

05112761001V2

CRPL3



Tina-quant ⓐ Protéine C-réactive (latex) 3e génération

● **Réactifs utilisables sur les analyseurs Roche/Hitachi suivants :**

Réf.	Flacon	Contenu	902	912	917	MODULAR P	MODULAR D
04956885 190	1 2	REAGENT 6 x 20 mL REAGENT 6 x 10 mL	●	●	●	●	
04956923 190	1 2	REAGENT 6 x 63 mL REAGENT 6 x 33 mL			●	●	
04995554 190	1 2	REAGENT 4 x 235 mL REAGENT 4 x 116 mL				●	●

Les analyseurs et les coffrets ne sont pas tous disponibles dans tous les pays. Pour l'utilisation sur d'autres analyseurs, veuillez contacter la société Roche Diagnostics de votre pays.

Français

Codes d'application

Pour les analyseurs Roche/Hitachi 912, 917, MODULAR P : ACN 210
Pour l'analyseur Roche/Hitachi MODULAR D : ACN 200

Domaine d'utilisation

Test immunoturbidimétrique pour la détermination quantitative *in vitro* de la CRP dans le sérum et le plasma humains sur les analyseurs de chimie clinique de Roche.

Caractéristiques[1,2,3,4,5,6,7,8]

La protéine C-réactive (CRP) est la protéine classique de la phase aiguë d'une inflammation. Elle est synthétisée dans le foie et est constituée de cinq chaînes polypeptidiques identiques formant un anneau de cinq éléments ; son poids moléculaire est de 105000 Da. La CRP est la protéine la plus sensible de la phase aiguë de l'inflammation, sa concentration augmente très rapidement dans les processus inflammatoires. La CRP complexée active la voie classique du complément. La réponse de la CRP précède généralement les symptômes cliniques, y compris la fièvre. Chez les sujets sains, la concentration de CRP est inférieure à 5 mg/L. Après amorce d'une réaction de phase aiguë de l'inflammation, les concentrations sériques de CRP augmentent rapidement et de façon importante. L'augmentation peut être détectée dans les 6 à 12 heures et le pic est atteint dans les 24 à 48 heures. Les taux supérieurs à 100 mg/L sont associés à des stimuli graves tels qu'un traumatisme majeur ou une infection grave (sepsis). La réponse de la CRP est diminuée chez les patients présentant une affection hépatique. Le dosage de la CRP sert à détecter les processus inflammatoires systémiques, à évaluer l'efficacité du traitement d'infections bactériennes par des antibiotiques, à détecter les infections intra-utérines en cas de rupture prématurée de membrane, à faire la différenciation entre forme active et forme inactive d'une maladie avec infection concomitante (par ex. chez les patients atteints de lupus érythémateux disséminé ou de rectocolite hémorragique), à apprécier l'activité de maladies rhumatismales et l'efficacité de traitements anti-inflammatoires, à détecter à un stade précoce des complications postopératoires (infection de plaie, thrombose, pneumonie) et à faire la différenciation entre infection et réaction de rejet après une transplantation de moelle osseuse. Le suivi postopératoire des taux de CRP de patients peut permettre de reconnaître des complications inattendues (persistance de taux élevés ou augmentation des taux). La mesure des variations de la concentration de CRP apporte des informations diagnostiques utiles quant au caractère aigu et à la gravité de la maladie. Elle permet également d'établir la génèse de la maladie. La persistance de concentrations de CRP sériques élevées est habituellement un signe de mauvais pronostic et indique généralement la présence d'une infection non contrôlée.

Principe[9,10]

Test immunoturbidimétrique sur particules de latex
La CRP humaine s'agglutine sur les particules de latex recouvertes d'anticorps monoclonaux anti-CRP. Les amas de particules sont déterminés par turbidimétrie.

Réactifs - composition et concentrations

R1 Tampon TRIS[a], sérumalbumine bovine, conservateurs
R2 Particules de latex recouvertes d'anticorps (de souris) anti-CRP dans un tampon glycine, immunoglobulines (de souris), conservateur

a) TRIS = Tris(hydroxyméthyl) aminométhane

Précautions d'emploi et mises en garde

Pour diagnostic *in vitro*
Observer les précautions habituelles de manipulation en laboratoire.
Fiche de sécurité disponible sur demande pour les professionnels.
L'élimination de tous les déchets doit être effectuée conformément aux dispositions légales.

Préparation des réactifs

R1 : Prêt à l'emploi.
R2 : Prêt à l'emploi. Avant l'emploi, retourner le flacon plusieurs fois en évitant la formation de mousse.

Conservation et stabilité

Avant ouverture des flacons : entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption indiquée
R1 : 84 jours après ouverture et réfrigéré sur l'analyseur
R2 : 84 jours après ouverture et réfrigéré sur l'analyseur

Prélèvement et préparation des échantillons

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.
Seuls les types d'échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés :
Sérum
Plasma recueilli sur héparinate de lithium, EDTA dipotassique/tripotassique.
Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test : les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.
Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Stabilité :[11] 11 jours entre 15 et 25 °C
2 mois entre 2 et 8 °C
3 ans entre -15 et -25°C

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Matériel auxiliaire nécessaire

- Calibrateurs : Preciset Serum proteins, Réf. 11876406 216
  C.f.a.s. (Calibrator for automated systems) Proteins
  Réf. 11355279 160, 11355279 216
- Contrôles : CRP T Control N, Réf. 20766321 322
  Precinorm Protein, par ex. Réf. 10557897 122
  Precipath Protein, par ex. Réf. 11333127 122
- Solution de NaCl 0,9 %
- Equipement habituel de laboratoire

Mode opératoire

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans la présente notice. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.
En cas d'utilisation de tests non validés par Roche, les performances analytiques ne sont pas garanties et doivent être définies par l'utilisateur.

Calibration

Traçabilité : la méthode a été standardisée selon une méthode interne, traçable par rapport au CRM 470 (RPPHS - Reference Preparation for Proteins in Human Serum).[12]

Après la saisie de nouvelles valeurs de calibrateur, une calibration doit être effectuée avant de procéder au dosage d'échantillons de patients ou de contrôles.

Analyseurs Roche/Hitachi 902/MODULAR D

S1 : Solution de NaCl 0,9 %

S2-5 : Preciset Serum proteins

Analyseurs Roche/Hitachi 912/917/MODULAR P

S1 : Solution de NaCl 0,9 %

S2 : C.f.a.s. Proteins

Pour calculer les concentrations des standards de la courbe de calibration (calibration en six points), multiplier les valeurs théoriques du C.f.a.s. Proteins par les facteurs multiplicateurs indiqués ci-dessous.

S2 : 0,10	S4 : 1,00	S6 : 4,00
S3 : 0,40	S5 : 2,00	

Fréquence des calibrations

Une calibration complète est recommandée :

- en cas de changement de lot de réactif
- si le contrôle de qualité l'exige

Contrôle de qualité

Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans le paragraphe « Matériel auxiliaire nécessaire ». D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés. La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies. Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors de ces limites.

Se conformer à la réglementation gouvernementale et aux directives locales en vigueur relatives au contrôle de qualité.

Calcul des résultats

L'analyseur calcule automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon.

Facteurs de conversion :	mg/L x 9,52 = nmol/L	mg/dL x 95,2 = nmol/L
	mg/L x 0,1 = mg/dL	mg/dL x 10 = mg/L
	mg/dL x 0,01 = g/L	g/L x 100 = mg/dL

Limites d'utilisation - interférences[13]

Critère d'acceptabilité : recouvrement ±10 % de la valeur initiale pour une concentration en CRP de 5,0 mg/L (47,6 nmol/L).

Ictère : pas d'interférence significative jusqu'à un indice I de 60 (concentrations approximatives de bilirubine conjuguée et non conjuguée : 60 mg/dL ou 1026 µmol/L).

Hémolyse : pas d'interférence significative jusqu'à un indice H de 1000 (concentration approximative d'hémoglobine : 1000 mg/dL ou 622 µmol/L).

Lipémie (Intralipid) : pas d'interférence significative jusqu'à un indice L de 1000. Il n'y a pas de concordance satisfaisante entre la turbidité et la concentration en triglycérides.

Le facteur rhumatoïde ne gêne pas jusqu'à 1200 UI/mL.

Effet crochet : pas d'interférences jusqu'à des concentrations en CRP de 1200 mg/L (11424 nmol/L).

Médicaments : aucune interférence n'a été trouvée aux concentrations thérapeutiques dans un panel de médicaments fréquemment administrés.[14,15]

Dans de très rares cas, la gammapathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés.

Bien que des mesures aient été prises pour minimiser les interférences dues aux anticorps humains dirigés contre les anticorps de souris, les échantillons de patients ayant reçu des préparations d'anticorps monoclonaux de souris à des fins thérapeutiques ou diagnostiques peuvent donner des résultats erronés.

Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

ACTION NÉCESSAIRE

Programmation de séquences de lavages spéciaux : sur les analyseurs Roche/Hitachi, certaines combinaisons de tests exigent la programmation d'étapes de lavage spéciales. Pour de plus amples informations, se référer à la dernière version de la liste de prévention des contaminations (Carry over evasion list) ainsi qu'au manuel de l'utilisateur. Pour les USA : pour les étapes de lavage particulières, se référer à la fiche de programmation Special Wash (site web MyLabOnline) et au manuel de l'utilisateur.

Le cas échéant, la programmation des lavages spéciaux/de prévention des contaminations doit être implémentée avant d'effectuer le rapport de ce test.

Limites et intervalles

Domaine de mesure

Analyseurs Roche/Hitachi 902/912/917/MODULAR P/MODULAR D :

Domaine de mesure : 0,3-350 mg/L (2,9-3333 nmol/L)

Les échantillons dont les concentrations sont supérieures à la limite supérieure du domaine de mesure sont réanalysés par l'analyseur via la fonction Réanalyse. Le rapport de dilution des échantillons dans la fonction Réanalyse est 1/2. Les résultats des échantillons dilués lors de la fonction Réanalyse sont automatiquement multipliés par le facteur 2.

Limite du Blanc (LdB) et limite de Détection (LdD)

LdB :	0,2 mg/L (1,9 nmol/L)
LdD :	0,3 mg/L (2,9 nmol/L)

La limite du blanc et la limite de détection ont été déterminées conformément aux exigences EP 17-A du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, anciennement NCCLS). La limite du blanc correspond au 95e percentile de n > 60 déterminations d'un ou plusieurs échantillons exempts d'analyte dans plusieurs séries indépendantes. La limite du blanc correspond à la concentration au-dessous de laquelle on obtient des échantillons exempts d'analyte avec une probabilité de 95 %. La limite de détection a été déterminée sur la base de la limite du blanc et la déviation standard des échantillons de faible concentration. La limite de détection correspond à la concentration de l'échantillon conduisant, avec une probabilité de 95 %, à l'obtention d'un résultat situé au-dessus de la limite du blanc.

Limite de Quantification (sensibilité fonctionnelle)

0,6 mg/L (5,7 nmol/L)

La limite de quantification a été déterminée à l'aide des résultats obtenus pour la sensibilité fonctionnelle. La limite de quantification (sensibilité fonctionnelle) est définie comme étant la concentration en CRP la plus basse donnant un coefficient de variation inter-série < 20 %. Elle a été déterminée à l'aide d'échantillons à faible concentration en protéine C-réactive.

Valeurs de référence

Domaine de référence pour adultes :[16] < 5 mg/L (< 47,6 nmol/L)

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir au besoin ses propres domaines de référence selon la population examinée.

L'exploration de l'érythropoïèse *via* le taux sérique des récepteurs solubles de la transferrine (Rs-Tf) chez les sujets anémiques

Résumé:

Par sa localisation privilégiée sur les cellules immatures érythroïdes de la moelle osseuse, le récepteur de la transferrine (R-TF) joue un rôle vital dans leur acquisition du fer qui sert à la synthèse de l'hémoglobine. La concentration intracellulaire en fer régule de manière inverse la synthèse du R-TF. Le récepteur soluble (Rs-TF) est une forme tronquée, monomérique du récepteur membranaire provenant majoritairement des cellules rouges immatures (érythroblastes). Sa concentration est le reflet direct du statut martial et de l'érythropoïèse. Une anémie par déficit martial concomitante à un syndrome inflammatoire est un cas fréquent chez les malades souffrants des maladies chroniques. Dans ce genre d'anémies, les paramètres courants d'exploration martiale sont inefficaces pour mettre en évidence cette carence. En effet, ils subissent des variations contradictoires ce qui rend le bilan martial ininterprétable, c'est le cas où la ferritine se comporte simultanément comme un marqueur de carence et une protéine de la phase aiguë de l'inflammation (la ferritinémie est normale ou élevée). Le dosage du Rs-TF trouve ici l'une de ses principales applications cliniques, car sa concentration n'est pas influencée par l'inflammation. Pour mettre en évidence l'intérêt de ce nouveau marqueur, cette étude a été réalisée sur 60 sujets sains (groupe1ou témoin) et 132 malades adultes hospitalisés au niveau du CHU de Sétif : 50 patients souffrant d'anémie ferriprive (groupe 2), 82 patients souffrant de maladies chroniques associée à une anémie (groupe 3). Tous ont bénéficié d'un bilan martial plus le dosage du Rs-Tf. Les résultats obtenus étaient concluants : la bonne corrélation du Rs-Tf avec les autres paramètres du bilan montre sa sensibilité au statut martial. Le taux du Rs-Tf est revenu élevé chez la totalité des malades du groupe 2 attestant une augmentation des besoins de l'organisme en fer. La différence interindividuelle du taux de Rs-Tf dans le groupe 3 nous a permis de sélectionner 42 patients ayant une carence martiale associée à la maladie chronique des 82 patients de départ. Ces résultats montrent la haute spécificité du Rs-Tf dans la mise en évidence d'une carence en fer sous-jacente à une maladie inflammatoire, ce qui le rend très avantageux par rapport aux anciens examens du bilan martial. Enfin, cette étude nous a permis de préconiser le dosage du Rs-Tf comme examen biochimique très prometteur pour l'exploration de l'érythropoïèse et le diagnostic différentiel des anémies chez l'adulte, avec un intervalle de valeurs normales de: 2.65 à 4.39 mg/L chez l'homme et la femme ménopausée et de: 2.03 à 3.69 mg/L chez la femme non ménopausée, dans l'espoir d'établir un intervalle international de valeurs de références.

Mots clés : fer sérique ; transferrine ; Rs-Tf, ferritine ; érythropoïèse ; anémie ferriprive ; anémie inflammatoire ; bilan martial.

The exploration of erythropoiesis *via* the serum transferrin receptor (sTfR) level in the anemic patients

Abstract:

The aim of the present study is to evaluate in a hospitalized population of anemic adults the diagnostic efficiency of the serum transferrin receptor (sTfR). The objective is to distinguish iron deficiency anemia (IDA) from anemia of chronic disease (ACD) and the combined forms (COMBI anemia). Serum iron and serum ferritin are the most commonly used tests for the detection of iron deficiency, however these values may not be reliable. Serum transferrin receptor (sTfR) has been introduced as a new tool, and its values are not affected by an increase in cytokine production in ACD patient. 132 patients, hospitalized at the CHU-Setif, were enrolled in this study; 50 were affected with IDA and 82 were affected with ACD. The control group included 60 healthy adults. Iron status was evaluated in these patients including serum transferrin receptor. Results showed that values of iron, MCV, and hemoglobin in IDA, ACD and COMBI groups were not significantly different. Serum ferritin values distinguished IDA from ACD reliably but the diagnostic usefulness of ferritin measurements in ACD and COMBI patients is limited for their wide range of variation. Serum TfR levels were > 4.39 mg/L in men and >3.69 mg/L in women in all IDA patient tested. This helped us to select 51% patients with COMBI anemia among the 82 patients with ACD. Serum TfR was the best test to differentiate IDA and COMBI anemia from ACD patients. Calculation of the ratio sTfR/log ferritin (sTfR-F Index), is a way of combining sTfR and ferritin results. This ratio provided an important parameter for the identification of patients with depleted iron pools. We conclude that sTfR measurement is a sensitive and a valuable-noninvasive tool for the diagnosis of iron depletion. It proves an attractive additional method to the conventional laboratory tests in the prediction of depleted iron pools in anemic adult population.

Key words: serum iron; transferrin, serum transferrin receptor; ferritin; iron deficiency anemia; anemia of chronic disease; serum iron level.

تقيم كثافة تنشئة الكريات الدموية الحمراء عن طريق قياس كمية المستقبل المصلي للترنسفيرين في الدم عند مرضى فقر الدم

الملخص:

يهدف هذا العمل إلى تقيم مدى فعالية قياس كمية المستقبل المصلي للترنسفيرين في الدم, كاختبار جديد في التشخيص التبايني للتمييز بين أنواع فقر الدم, وكمية المعلومة التي يمكن أن يضيفها للتشخيص حول كثافة تنشئة الكريات الدموية الحمراء مقارنة بالاختبارات المصلية المعتاد الاعتماد عليها في مثل هذه الحالات من التشخيص, حيث اثبت عدم جدوى الاعتماد عليها في الحالات التي يكون تركيزها في الدم لا يعكس الحالة الفيزيولوجية الحقيقية لمخزون الجسم من الحديد, خاصة بالنسبة للفيريتين (البروتين المخزن للحديد). في الحالات التي يتزاوج فيها نقص الحديد مع مرض التهابي مزمن أين ترتفع كميتها في الدم تحت تأثير نواتج الالتهاب. وبالتالي فهي تموه حالة نفاذ الحديد في الجسم وتجعل عملية التشخيص صعبة, هذا ما يتطلب اللجوء إلي معايير جديدة أكثر فعالية , مثل مستقبل الترنسفيرين الذي تتناسب كميته في الدم طردا مع حاجة الجسم للحديد خاصة النخاع العظمي, كما أنها لا تتأثر بنواتج الالتهاب. من اجل إثبات ذلك أجرينا هذه الدراسة على عينة تتكون من 132مريض يعالجون على مستوى المستشفي الجامعي – سطيف : 50 مريض يعانون من فقر الدم ناتج عن نقص كمية الحديد في الجسم, و 82 مريض يعانون من فقر الدم ناتج عن أمراض التهابية مزمنة يحتمل أن يكون مرفق بنقص كمية الحديد في الجسم, و60 فرد في صحة جيدة يمثلون المجموعة الشاهدة. استفاد كل فرد من تحاليل للدم اشتملت جميع المعايير التقليدية لتشخيص حاجة الجسم للحديد إضافة إلى قياس كمية المستقبل المصلي للترنسفيرين (موضوع دراستنا), هذا الأخير الذي مكننا من إثبات الحاجة الشديدة للحديد عند المرضى الذين يعانون نقص كمية الحديد في الجسم حيث كانت قيمته جد مرتفعة عند هذه الفئة, كما مكننا من انتقاء 42 مريض يعانون نقص كمية الحديد في الجسم من بين 82 حيث عجزت عن ذلك الفيريتين والمعايير الأخرى المعتادة. وبالتالي هذه الدراسة سمحت لنا باقتراح هذا المعيار الجديد لإضافته إلي قائمة التحاليل المخبرية التي يعتمد عليها الطبيب للتشخيص التبايني لحالات مرض فقر الدم, وتقييم كثافة تنشئة الكريات الدموية الحمراء في النخاع العظمي وحاجة هذا الأخير للحديد. كما نقترح هذا المعيار كبديل يعوض المعيار التقليدي الوحيد الذي يتطلب الفحص المجهري لعينة من نخاع العظم بإجراء ثقب في العظم لمعرفة مخزونه من الحديد (عملية جد مؤلمة ومكلفة). كما تمكننا من تعين مجال للقيم العادية عند الفرد البالغ من (2,65 إلي 4,39) ملغ/ل عند الرجل و من (2,03 إلي 3,69) ملغ/ل عند المرأة, لكن يبقي تعين مجال القيم الفيزيولوجية العادية ليعتمد عليه عالميا هو الهدف المرجو في المستقبل.

الكلمات الدالة : فقر الدم ,الحديد, كمية الحديد في الجسم, الترنسفيرين, مستقبل الترنسفيرين, النخاع العظمي, الكريات الدموية الحمراء, مرض التهابي مزمن, نقص الحديد .